

Universidad de La Salle

Ciencia Unisalle

Ingeniería de Alimentos

Facultad de Ingeniería

2019

Desarrollo de una bebida refrescante con antioxidantes a base de café verde (*Coffea arábica*) y pulpa de gulupa (*Passiflora edulis* Sims)

Iendy Sharik Gil Ruiz

Universidad de La Salle, Bogotá

Gina Viviana Deaza Mancera

Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos



Part of the [Food Chemistry Commons](#), [Food Processing Commons](#), and the [Other Food Science Commons](#)

Citación recomendada

Gil Ruiz, I. S., & Deaza Mancera, G. V. (2019). Desarrollo de una bebida refrescante con antioxidantes a base de café verde (*Coffea arábica*) y pulpa de gulupa (*Passiflora edulis* Sims). Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/275

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ingeniería at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Ingeniería de Alimentos by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**DESARROLLO DE UNA BEBIDA REFRESCANTE CON ANTIOXIDANTES A
BASE DE CAFÉ VERDE (*Coffea arabica*) Y PULPA DE GULUPA (*Passiflora edulis*
Sims).**

IENDY SHARIK GIL RUIZ

GINA VIVIANA DEAZA MANCERA

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE INGENIERÍA

PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

BOGOTÁ, 2019

**DESARROLLO DE UNA BEBIDA REFRESCANTE CON ANTIOXIDANTES A
BASE DE CAFÉ VERDE (*Coffea arabica*) Y PULPA DE GULUPA (*Passiflora edulis*
Sims).**

IENDY SHARIK GIL RUIZ

GINA VIVIANA DEAZA MANCERA

ÁNGELA MARÍA OTÁLVARO ÁLVAREZ

Ingeniera Química, MSc, PhD

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE INGENIERÍA

PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

BOGOTÁ, 2019

DEDICATORIA

Iendy Sharik Gil Ruiz

Primero las gracias van para Dios por ser mi principal proveedor en el crecimiento de una formación espiritual y profesional. Por cada una de las personas que puso en mi camino durante este proceso.

Gracias a mi madre Nubia Ruiz que siempre me ha enseñado a luchar constantemente por cada uno de esos sueños, metas y por creer en mi cada día y gracias a mi padre Alveiro Gil por ser mi guía y maestro cada día, les agradezco también por poner en mis manos todas las herramientas para construir un futuro con buenos conocimientos basados en el amor y respeto por Dios y la por la vida acompañado de un sin número de valores.

Gina Viviana Deaza Mancera

Esta tesis va dedicada a Dios por ayudarme a lograr una meta más, dándome la fuerza para continuar con este proyecto de vida y no permitir rendirme en los momentos difíciles que se me pudieron presentar.

Les agradezco a mi familia por apoyarme, a mis padres, Graciela Mancera, Carlos Julio Deaza por acompañarme en esta etapa, aconsejarme y guiarme en cada paso dado, por ayudarme en los momentos difíciles y no dejarme vencer por aquellos problemas que se me podían presentar.

Agradecimientos

Le agradecemos a la ingeniera Ángela Otálvaro quien fue partícipe de este proyecto y nos dio el apoyo necesario para poder desarrollarlo, guiándonos en el recorrido de esta investigación. Igualmente queremos agradecer a los directivos del programa quienes permitieron el desarrollo de la investigación, disponiendo los correspondientes espacios para poder llevarlo a cabo, así como a los profesores del programa, quienes estuvieron dispuestos a atender nuestras dudas cada vez que fue necesario.

Tabla de Contenido

Resumen	1
Abstract	2
1. Planteamiento del problema	3
1.1. Descripción del Problema	3
1.2. Formulación del problema	4
2. Objetivos	5
2.1. Objetivo general	5
2.2. Objetivos Específicos.....	5
3. Marco de referencia	6
3.1. Marco conceptual.....	6
3.2. Marco teórico.....	8
3.2.1. Café.....	8
3.2.2. Gulupa.....	15
3.2.3. Refrescos de fruta	19
3.3. Marco legal.....	20
4. Antecedentes.....	22
5. Metodología.....	26
5.1. ETAPA 1: Elaboración y caracterización de la infusión de café verde.	26

5.1.1.	Caracterizaciones fisicoquímicas de la infusión de café verde.	26
5.1.2.	Cuantificación de actividad antioxidante y cafeína en la infusión de café	27
5.2.	ETAPA 2: Obtención y caracterización de la pulpa de gulupa	29
5.2.1.	Caracterización fisicoquímica de la pulpa de gulupa	29
5.2.2.	Cuantificación actividad antioxidante de la pulpa de gulupa.....	30
5.3.	ETAPA 3: Elaboración y caracterización del refresco	30
5.3.1.	Caracterización fisicoquímica de los refrescos	32
5.3.2.	Cuantificación de actividad antioxidante y cafeína en el refresco	33
5.4.	Pruebas sensoriales	33
5.5.	Diseño experimental	35
6.	Resultados y discusión	37
6.1.	ETAPA 1: Resultados de caracterización de la infusión de café verde.	37
6.1.1.	Pruebas fisicoquímicas a la infusión de café verde.	37
6.1.2.	Determinación de cafeína y actividad antioxidante en la infusión de café verde	39
6.2.	ETAPA 2: Resultados de caracterización de la pulpa de gulupa	41
6.2.1.	Pruebas fisicoquímicas a la pulpa de gulupa.....	41
6.2.2.	Determinación de capacidad antioxidante por DPPH y FRAP (método espectrofotométrico)	42
6.3.	ETAPA 3: Resultados de caracterización del refresco	43

6.3.1.	Caracterización fisicoquímica al refresco	44
6.3.2.	Cuantificación de la cafeína y la actividad antioxidante en el refresco	47
6.4.	Resultados de prueba sensorial.....	50
6.4.1.	Color	51
6.4.2.	Aroma	51
6.4.3.	Sabor	52
6.4.4.	Apariencia general.....	52
7.	Conclusiones.....	53
8.	Recomendaciones	55
9.	Referencias	57
10.	Anexos.....	66

Lista de Graficas

Gráfica 1 Acidez de los tratamientos	45
Gráfica 2 pH de los tratamientos	46
Gráfica 3 °Brix de los tratamientos.....	47
Gráfica 4 Cantidad de cafeína	48
Gráfica 5 Cantidad de antioxidantes por método DPPH.....	50
Gráfica 6 Cantidad de antioxidantes por método FRAP	50
Gráfica 7 Resultado general de análisis sensorial.....	51

Lista de Figuras

Figura 1. Prueba sensorial aplicada a panelistas	34
--	----

Lista de tablas

Tabla 1. Cantidad de ácido clorogénico en el café verde en las variedades arabica y canephora.....	14
Tabla 2. Tabla nutricional gulupa	17
Tabla 3 Curva de calibración.....	29
Tabla 4. Tratamientos del estudio.....	31
Tabla 5. Porcentaje y peso de componentes correspondiente de cada tratamiento.	32
Tabla 6 Cantidad de pruebas a realizar respecto a cada tratamiento	35
Tabla 7. Caracterización de la infusión de café verde	37
Tabla 8. Caracterización de la pulpa de gulupa.....	41
Tabla 9 Caracterización de los tratamientos.....	44

Lista de Anexos

Anexo 1 Procedimiento de elaboración de la infusión de café verde y los refrescos	66
Anexo 2 Formulaci3n T1	66
Anexo 3 Formulaci3n T2	67
Anexo 4 Formulaci3n T3	67
Anexo 5 Formulaci3n T4	67
Anexo 6 Tabla ANOVA para %acidez	68
Anexo 7 Grupos de tratamientos por %acidez	68
Anexo 8 Tabla ANOVA para pH	68
Anexo 9 Grupos de tratamientos por pH.....	69
Anexo 10 Tabla ANOVA para °Brix.....	69
Anexo 11 Grupos de tratamientos por °Brix	69
Anexo 12 Curva de calibraci3n de determinaci3n de cafeína	70
Anexo 13 Curva de calibraci3n de determinaci3n de antioxidantes m3todo DPPH	70
Anexo 14 Curva de calibraci3n de determinaci3n de antioxidantes m3todo FRAP.....	71
Anexo 15 Tabla resumen de características fisicoquímicas de tratamientos.	71
Anexo 16 Muestras de los extractos obtenidos	72
Anexo 17 Tratamientos obtenidos	72
Anexo 18 Prueba sensorial	73

Resumen

La presente investigación tiene como objeto el desarrollo de una bebida refrescante, la cual aporte la capacidad antioxidante del café verde (*Coffea arabica*) y la gulupa (*Passiflora edulis* Sims), incluyendo sus características fisicoquímicas. Para ello, se evaluaron diferentes formulaciones de la bebida refrescante. La bebida se elaboró a partir de la mezcla de una infusión de café verde y pulpa de gulupa previamente caracterizadas, teniendo en cuenta que los niveles de cafeína no superaran lo recomendado por el INVIMA en el Acta 03/06 (250 mg/L). Las formulaciones evaluadas fueron: T1: 0% infusión de café verde, 100% agua (Patrón); T2: 100% infusión de café verde, 0% agua, T3: 50% infusión de café verde, 50% agua y T4: 75% infusión de café verde, 25% agua. Una vez desarrolladas las distintas mezclas, se les realizaron pruebas fisicoquímicas correspondientes a pH, acidez, °Brix, capacidad antioxidante por dos métodos (FRAP y DPPH) y se evaluó su aceptación sensorial, con un panel no entrenado. Como resultado se obtuvo que todos los tratamientos evaluados se encontraron en rangos de pH, acidez y °Brix aceptables de acuerdo a la resolución 3929 del 2013 y cumplieron con el límite de consumo recomendado de cafeína. Adicionalmente, el tratamiento con una mayor aceptación sensorial fue la T3. Esta última se caracterizó por un pH de $3,73 \pm 0,0058$, $10 \pm 0,1$ °Brix, $0,23 \pm 0,0038$ % acidez reportada en ácido cítrico, antioxidantes por DPPH de $0,059 \pm 0,001$ mg/ L y por FRAP de $0,06 \pm 0,004$ mg/L y cafeína de $0,000052$ mg/L, demostrando que es un producto adecuado para el mercado, que podría ser comercializada generando nuevos ingresos para productores y transformadores de café.

Abstract

The present research aims at the development of a refreshing beverage, which contributes to the antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica*) and purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims), including its physicochemical characteristics. To do this, different formulations of the refreshing drink were evaluated. The drink was made from the mixture of a green coffee infusion and purple passion fruit pulp previously characterized, taking into account that the caffeine levels did not exceed that recommended by INVIMA in Act 03/06 (250 mg/L). The formulations evaluated were: T1: 0% infusion of green coffee, 100% water (Pattern); T2: 100% infusion of green coffee, 0% water, T3: 50% infusion of green coffee, 50% water and T4: 75% infusion of green coffee, 25% water. Once the different mixtures were developed, they were subjected to physicochemical tests corresponding to pH, acidity, Brix, antioxidant capacity by two methods (FRAP and DPPH) and their sensory acceptance was evaluated, with an untrained panel. The result was that all the evaluated treatments were found in acceptable pH, acidity and Brix ranges according to resolution 3929 of 2013 and met the recommended caffeine intake limit. The treatment with greater sensory acceptance was T3. The latter was characterized by a pH de $3,73 \pm 0,0058$, $10 \pm 0,1$ °Brix, $0,23 \pm 0,0038$ % acidity reported in citric acid, antioxidants by DPPH of $0,059 \pm 0,001$ mg/ L and by FRAP of 0.06 ± 0.004 mg/L and caffeine of $0,000052$ mg/L, demonstrating that it is a suitable product for the market, which could be marketed generating new income for coffee producers and processors.

1. Planteamiento del problema

1.1. Descripción del Problema

En Colombia el café tiene una gran importancia socioeconómica, ya que es uno de los principales productos de consumo nacional y de exportación. En los últimos cuatro años, la producción de café se situó en un promedio anual de 14 millones de sacos, cifra que ha sido sostenida, resultado del programa extensivo de renovación de cafetales emprendido por los agricultores con apoyo del gobierno nacional, los principales departamentos productores de café en Colombia son: Nariño, Norte de Santander, Antioquia, Valle del Cauca, Cundinamarca, Huila, Tolima, el Eje Cafetero (AGRO, 2018).

El café verde tiene una gran importancia, debido a su valor nutricional y medicinal, que radica principalmente en su alto contenido de ácido clorogénico lo cual le confiere propiedades como antioxidante (Rendón, 2013).

Otro aspecto importante en la investigación es el de incluir la gulupa, que es un fruto que por sus características organolépticas (sabor y aroma) y nutricionales se destaca como un producto con gran potencial para el consumo en fresco en el país. El propósito es implementar este fruto por sus características nutricionales dentro del diseño de una matriz alimenticia de modo que se desarrollen productos que cubran las necesidades funcionales que están buscando los consumidores de diferentes países ante requerimientos como el de antioxidantes para contrarrestar los efectos del envejecimiento.

Según los datos que arrojó un estudio realizado por la consultora Nielsen, en 2017, el 48% de los millenials está dispuesto a pagar más por un producto premium, con beneficios para su salud, así el 22% prefiere alimentos orgánicos, el 16% elige aquellos bajos en cafeína y el 14% opta por los que no tienen gluten. Estos números muestran, de manera general, que los

alimentos bajos en grasas, orgánicos, sin azúcares añadidos o los llamados snacks saludables y productos con algún aporte nutricional, están incluidos por sus atributos en la dieta de esta población y por tanto deben ser observados con atención (Bascur, 2018).

Esto abre una brecha que puede ser aprovechada para ofrecer un producto con las anteriores características, que actualmente no se encuentra en el mercado colombiano. Debido a la apertura comercial en la que se encuentra actualmente el país, la industria muchas veces prefiere importar este tipo de productos, sabiendo que se cuenta con la disponibilidad permanente de la materia prima (café verde y gulupa), entonces porque no realizarlo directamente en el país, generando un producto con beneficios adicionales por un costo más bajo.

1.2. Formulación del problema

¿La bebida a base de infusión de café verde y gulupa como fuentes de antioxidantes, elaborada sin exceder la concentración de cafeína permitida, es aceptada fisicoquímica y sensorialmente?

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Desarrollar una bebida refrescante con contenido de infusión de café verde y pulpa de gulupa con aporte antioxidantes.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar la infusión de café verde (*coffea Arabica*) y la pulpa de gulupa (*Passiflora edulis* Sims) utilizados para la elaboración de las bebidas refrescantes.
- Evaluar las características fisicoquímicas y la actividad antioxidante, de diferentes formulaciones de una bebida refrescante elaborada a partir de la infusión de café verde y pulpa de gulupa.
- Evaluar la aceptación sensorial de las bebidas, teniendo en cuenta las distintas formulaciones.

3. Marco de referencia

3.1. Marco conceptual

Antioxidantes: según Ramírez et al. (2011), los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo humano utiliza para eliminar radicales libres, son consideradas sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y producen la oxidación de sus diferentes partes, generando alteraciones en el ADN y cambios diversos que aceleran el envejecimiento del cuerpo. Lo anterior se debe a que el oxígeno, aunque es imprescindible para la vida, es también un elemento químico muy reactivo. El propio cuerpo genera radicales libres para su propio uso (control de musculatura, eliminación de bacterias, regulación de la actividad de los órganos, etc.), pero al mismo tiempo genera antioxidantes para eliminar los radicales libres sobrantes, ya que estas sustancias son muy agresivas. Existen dos tipos de antioxidantes, los no enzimáticos que se refieren sobre todo a las vitaminas A, C y E; y los enzimáticos que son los que el mismo organismo produce como el glutatión que es un tri péptido no proteínico constituido por tres aminoácidos: glutamato, cisteína y glicina.

Bebida alta en cafeína: las bebidas (excepto café y té) que contengan más de 150 mg de cafeína por litro, deben declararlo en el rótulo y agregar “Alto en cafeína”. Las bebidas que contienen cafeína no deben ser consumidas por menores de 18 años porque no se sabe con certeza sus efectos adversos en este grupo. La mayoría tienen ácido fosfórico, al igual que los refrescos, que está comprobado que disminuye la densidad ósea en los niños (INVIMA, 2006).

Cafeína: es un componente inodoro, incoloro y amargo. Friedrich Ferdinand Runge la aisló del café en 1819 y del té en 1827, pero su estructura química no se describió hasta 1875 por E. Fischer. La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) y los otros alcaloides metilxantínicos, como la teobromina (3,7- dimetilxantina) y la teofilina (1,3-dimetilxantina), son derivados del grupo de las xantinas, que a su vez se derivan de las purinas. Se relacionan farmacológicamente con los psicoestimulantes (Echeverri et al., 2005).

Café verde: los granos de "café verde" son granos de café que aún no han sido tostados. El proceso de tostado de los granos de café reduce la cantidad del químico, ácido clorogénico. Por lo tanto, los granos de café verde tienen un mayor nivel de ácido clorogénico en comparación con los granos de café regulares y tostados. El ácido clorogénico del café verde se cree que tiene beneficios para salud (MedlinePlus, 2018).

DPPH: metodología usada para determinar el potencial de captura de material radicalario, en presencia de una sustancia antioxidante, permitiendo determinar el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso. El método de captura del radical DPPH es utilizado desde hace muchos años, por numerosos autores que han ido realizando adaptaciones del mismo a la matriz alimentaria de la que quieren obtener información (Jimenez, Sanchez, & Martinez, 2012).

FRAP: técnica empleada para determinar el poder antioxidante de la reducción férrica, por sus siglas en inglés. Esta metodología consiste en medir el incremento en la absorbancia a 593 nm (azul) que se desarrolla cuando el complejo TPTZ-Fe⁺³ se reduce a TPTZ-Fe⁺² (Garcia et al., 2011).

Gulupa: su nombre científico es *Passiflora edulis* Sims y es una fruta exótica que se originó de forma silvestre en la región de la Amazonía. Es una fruta redonda de color verde, amarillo o morado, dependiendo del grado de maduración, y su sabor es sutilmente ácido, aunque un poco más dulce que el sabor del maracuyá. Su contenido nutricional es muy exquisito, la gulupa contiene agua, calorías, proteínas, carbohidratos, antioxidantes, grasas, calcio, fósforo, hierro, es rica en fibra y en vitaminas A, B y C (Rojas, 2017).

3.2. Marco teórico

3.2.1. Café

Origen

Su centro de origen se ubica en el Sudeste de Etiopía, el Sur del Sudán y el Norte de Kenya, pero cuenta con una amplia distribución geográfica. Se encuentra silvestre en las zonas bajas tropicales de África, Sudán, Uganda, Angola y el Noroeste de Tanzania. La planta fue clasificada en un nuevo género denominado *coffea* en 1737 (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2010).

Taxonómica y Morfología

El cafeto Arábica es un arbusto que puede llegar a medir 7 m de altura con hojas ovaladas verde oscuro. Es genéticamente diferente de otras especies de café, puesto que tiene cuatro series de cromosomas en vez de dos. El fruto es ovalado y tarda en madurar de 7 a 9 meses.

La planta crece en un intervalo de temperatura de 15 a 24°C. El café Arábica es a menudo susceptible a plagas y enfermedades (International Coffee Organization, 2017).

Cosecha

Los periodos de cosecha están asociados con la estacionalidad de las floraciones y con las particularidades del cultivo. En el caso de la especie de Café Arábica la cosecha ocurre entre 210 y 224 días después de las floraciones. Las floraciones son inducidas cuando la planta sufre un estrés hídrico seguido de lluvias. Para la recolección es importante que el fruto se encuentre en óptimo estado de madurez, con frutos que pueden estar sobre maduros o ligeramente inmaduros, en el caso de ciertas regiones colombianas se generan floraciones, y consecuentemente frutos maduros, en 50 semanas de las 52 que tiene el año (Federación Nacional de Colombia, 2010).

Condiciones ambientales

En el caso del café arábico, que es más vulnerable a plagas y enfermedades que el Robusta, su adaptación es mayor en las zonas subtropicales o en aquellas zonas tropicales de mayor altitud, que tienden a ser menos inhóspitas y con temperaturas promedio menos elevadas, en lo que se refiere a las zonas montañosas de gran altitud en el trópico, como es el caso del Este de África (Kenya, Tanzania y Etiopía) y las zonas tropicales de las Américas (como es el caso de Colombia); es posible producir café en altitudes de hasta más de dos mil metros sobre el nivel del mar en cercanías con la línea ecuatorial. En las zonas de baja latitud y mayor altitud, la temperatura promedio en el año permite producir café de altísima calidad (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2010).

Producción

En mayo del año 2017 la producción de café en Colombia (mayor productor mundial de café arábigo suave lavado) fue de 901.000 sacos de 60 kg, representando una caída de 22,5% frente a 1.163.000 sacos producidos en el mismo mes del año 2016. Así lo dio a conocer la Federación Nacional de Cafeteros que informó que esto se debió principalmente a un retraso en las floraciones responsables de la cosecha del primer semestre de 2017, ocurridas entre mayo y octubre de 2016. En lo corrido del año (enero-mayo), la cosecha fue de 5,3 millones de sacos de 60 kg, 1,1% menos frente a los casi 5,4 millones de sacos producidos en igual periodo anterior. En los últimos 12 meses de ese periodo (junio de 2016-mayo de 2017), la cosecha cafetera fue de casi 14,2 millones de sacos, 2,6% menos frente a los casi 14,6 millones de sacos producidos en el mismo periodo del año anterior. En lo que transcurrió del año cafetero entre octubre 2016 y mayo 2017, la producción de café colombiano fue de casi 9,7 millones, un aumento de 1,7% frente a los más de 9,5 millones de sacos cosechados en igual lapso del año anterior (Portafolio, 2017).

Tipos de café según el tratamiento

Según Navarro (2012), con el fin de determinar su modo de comercialización, el café es clasificado en café verde, café natural, café torrefacto, café descafeinado y café tostado natural. El café verde se refiere al grano resultante luego de terminado el tratamiento del café (despulpado, fermentación del grano, lavado, secado y trillado del café). Este producto es el que se tiene antes de tostar y por lo mismo es el que suele venderse para que cada país receptor se encargue de los procesos posteriores.

Industrialización de Café

Los procesos de industrialización del café se desarrollan en todos los continentes, cerca de los mercados de consumo final del producto. Estos procesos se aplican de la misma manera en cualquier parte del mundo, siempre y cuando los conceptos y procesos que se le realizan al café sean los mismos.

Para la industrialización del café es necesario conocer el tipo de materia prima o variedad de esta (café verde) que se utilice, ya que de acuerdo a las técnicas utilizadas para su tratamiento pueden llegar a atenuar los defectos de la materia prima, pero no mejorar la calidad de esta, por lo cual es necesario conocer las características específicas de esta.

Productos a base de café verde

Dentro de los productos elaborados a partir del café verde (granos que no han sido tostados ni procesados con ningún otro ingrediente) que se comercializan en el mundo, se encuentran:

Green Cola: se trata de una bebida de café verde cuya principal característica es ser totalmente natural y endulzado con Stevia; este producto se encuentra en el mercado en dos presentaciones tanto en lata como en botella (Green Cola Bottling International, 2017).

Cola de Franklin & Sons: se trata de un refresco con nuez de cola de África occidental y grano de café verde, su sabor es particular ya que se siente su dulzor picante de más de 30 hierbas y especias diferentes, equilibrado con vainilla y café verde colombiano. Este producto se encuentra en el mercado en dos presentaciones

variando la cantidad de cada ingrediente en su formulación (Franklin & Sons Ltd , 2017).

Refreshers Starbucks: está incursionando en las bebidas energéticas con un jugo de frutas bajo en calorías que contiene extracto de café verde, se encuentra en tres diferentes sabores: granada de frambuesa, limonada de fresa y naranja melón; los productos están actualmente disponibles solo en los EE. UU (Shearman, 2012).

Frunergy: es una bebida energética que contiene hasta un 20% de frutas y extractos de cafeína natural de café verde, el producto se encuentra en cuatro sabores diferentes: frutas del bosque, naranja, manzana verde y pomelo; los productos están actualmente disponibles solo en España (Hostelvending, 2014).

Según la Fundación Española de Corazón (2017), el consumo diario moderado de cafeína (hasta 300 mg, el equivalente a dos tazas de café) es lo recomendado por los expertos. Controlar las cantidades que se consumen es importante ya que un exceso de cafeína puede provocar el aumento del ritmo cardiaco, arritmia, subida de la tensión arterial, irritabilidad, insomnio, intranquilidad, nerviosismo, diuresis y/o diarrea y náuseas.

La cafeína se encuentra en numerosos productos de consumo cotidiano, es decir su ingesta es habitual. Una taza de café de 125 mL contiene entre 95 y 125 mg; una de té de 150 mL entre 60 y 90 mg; un mate conteniendo 50 g de yerba aporta entre 715 y 445 mg. Un vaso de gaseosa de 250 mL aporta de 8 a 53 mg. Los comprimidos analgésicos contienen entre 40 y 65 mg por unidad según consta en sus etiquetas. Las bebidas energéticas por cada lata de 250 ml aportan entre 28 y 85 mg.

La cafeína a dosis altas (consumo diario superior a 250 mg de cafeína, es decir 3-4 latas de bebidas energizantes por día) puede producir irritabilidad, nerviosismo, insomnio, aumento de la frecuencia urinaria, temblor, dolores de cabeza, taquicardia (aumento de la frecuencia cardíaca) y a dosis tóxicas, arritmias cardíacas, excitación, delirios, convulsiones, etc (INVIMA, 2006).

Antioxidantes en el café

La presencia de antioxidantes en el café empezó a ser estudiada a mediados del siglo XX, prueba de ello es el estudio publicado en la Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora, en el cual se determinó la actividad antioxidante de dos tipos de café (*coffea arábica* y *coffea canephora*), mediante los métodos ABTS \cdot y DPPH; los resultados de estas determinaciones fueron los siguientes $209,29 \pm 6,72$ (μ moles eq. trolox/g) y $813,51 \pm 2,83$ (μ moles eq. trolox/g) respectivamente (Pérez et al., 2013).

Según Ramírez (2011), se ha demostrado que el café, el té y el vino, contiene importantes antioxidantes fenólicos, en el caso del café contiene el ácido clorogénico y el ácido cafeico. Los compuestos fenólicos de las plantas tienen como propiedades generales las de ser antioxidantes, ejercer efectos quelantes (sustancia que forma complejos fuertes con iones de metales pesados) y modular la actividad de varios sistemas enzimáticos, de modo que actúan mayoritariamente en la dieta, como elementos que promueven salud ante factores químicos y físicos estresantes para el organismo. En la tabla 1, se puede evidenciar la composición del café, destacando la presencia de ácidos clorogénicos que aportan su capacidad antioxidante.

Tabla 1. Cantidad de ácido clorogénico en el café verde en las variedades arabica y canephora.

Especie de café	Estado de desarrollo del fruto	Tipo de beneficio*	CGAT (%)			C.V. (%)
			Mínimo	Promedio	Máximo	
<i>Coffea arabica</i> L.	Verde	BS	6,43	6,79	7,18	3,8
	Pintón	FN	4,72	6,11	7,93	11,9
	Maduro	FN	5,24	6,19	7,61	9,2
	Maduro	BEC	5,46	6,20	6,92	5,2
	Sobremaduro	FN	5,17	6,25	8,58	11,4
<i>Coffea canephora</i>	Pintón	FN	7,86	7,93	8,01	1,4
	Maduro	FN	8,21	9,25	10,59	7,7
	Maduro	BS	7,45	7,72	7,98	4,9
	sobremaduro	FN	8,38	9,10	9,81	11,1
	no selectiva	BS	7,98	9,04	10,81	10,3

* FN: Fermentación natural; BS: Beneficio seco;

BEC: Beneficio por desmucilaginado mecánico; CGAT: A. Clorogénico.

Fuente: Garcia & Quintero (2008).

La ingesta de alimentos ricos en antioxidantes naturales en la actualidad es considerada una de las formas más efectivas de reducir el riesgo del desarrollo de aquellas enfermedades crónicas no transmisibles que limitan la calidad y reducen las expectativas de vida de la población mundial. El contenido natural de antioxidantes en algunos alimentos es importante, no sólo porque estos compuestos contribuyen a definir las características organolépticas y a conservar la calidad nutricional de los productos que los contienen, sino porque al ser ingeridos, ayudan a mejorar la salud de los individuos que los consumen. Partiendo de este punto, el contenido de antioxidantes que contiene las bebidas a base de café, llega a ser una ventaja para el consumidor (Herrera, 2016).

3.2.2. Gulupa

Origen

La gulupa, *Passiflora edulis* Sims., es una fruta exótica originaria de la región amazónica, aunque crece de forma silvestre en un área que abarca desde el sur de Colombia hasta el norte de Argentina, Uruguay y Paraguay (Miranda et al., 2009).

Taxonómia y Morfología

Esta especie pertenece a la familia *Passifloráceae*. Su fruto es en forma de baya, redondo u ovalado con el pericarpio poco grueso y con arilo pulposo de color anaranjado, el color va de verde a púrpura (según el grado de madurez), su sabor es ligeramente ácido; con buenas cualidades organolépticas de sabor y aroma (Instituto de Ciencias Naturales, 2016).

Cosecha

En Colombia, en altitudes cercanas a los 1500 msnm, la primera cosecha tarda de 8 a 9 meses. Se presentan dos picos de producción durante el año, dependiendo principalmente de la época de las lluvias, cada pico puede durar entre 2 y 3 meses. La longevidad rentable de una plantación en Colombia, se encuentra entre 4 y 5 años; logrando producciones de 7 t a 20 t.

El momento de la cosecha es determinado por el porcentaje de maduración de la fruta, ésta se alcanza cuando la epidermis del fruto presenta 50% de color verde y 50% de color morado. La recolección se realiza en las primeras horas del día ya que la fruta presenta mayor frescura y no se expone a la radiación solar y aumento en la temperatura. Se efectúa de forma manual

aplicando presión con los dedos sobre la zona de abscisión de pedúnculo utilizando tijeras y guantes (Miranda et al., 2009).

Condiciones ambientales

Los factores medioambientales que más favorecen el desarrollo y producción de la gulupa son: temperatura 15- 20°C, altitud 1400-2200 m, precipitación 1500- 2000 mm), humedad relativa (HR) 70-75% y vientos en calma a leves (Fischer, 2017).

Productos derivados

El auge en el consumo de frutas como las pasifloras resulta de gran interés, debido a que son alimentos con un gran contenido de agentes nutracéuticos naturales como las vitaminas, minerales, sales y ácidos orgánicos, enzimas, aminoácidos, pigmentos, pocas grasas, agua y agentes antioxidantes. El estado de madurez del fruto (gulupa) está relacionada con la acumulación de los carotenoides en la pulpa, es decir, que entre más maduro se consuma el fruto, el contenido de este pigmento será mayor; a esto se debe el incremento del aporte en antioxidantes. De acuerdo a Franco (2013), en la gulupa el potencial de la actividad antioxidante del jugo, está dado por los contenidos de ácido ascórbico (vitamina C) y carotenoides. Esto se puede confirmar en la tabla nutricional aportada por el Departamento de Agricultura de los Estados (Tabla 2).

Tabla 2. Tabla nutricional gulupa

Información nutricional	
Tamaño de la porción 100g	
Porciones por envase	
Cantidad por porción	
Calorías 100	calorías de grasa 0
% Valor diario*	
Grasa total 0g	0%
Grasas saturadas 0g	0%
Grasas trans 0g	
Colesterol 0g	0%
Sodio 28mg	1%
Carbohidratos totales 23g	8%
Fibra dietética 10g	40%
Azúcares 11g	
Proteína 2g	
Vitamina A	25%
Vitamina C	50%
Calcio	0%
Hierro	9%

*El porcentaje de valores diarios están basados en una dieta de 2.000 calorías. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades calórica.

Fuente: USDA (2015).

Características organolépticas del fruto de gulupa

Su sabor y aroma son atributos vinculados directamente a las condiciones edafológicas (naturaleza del suelo y hábitat de las plantas), condiciones climáticas y demás factores naturales de su área de producción, así como a los factores humanos involucrados (conocimientos ancestrales) en el cultivo, cosecha y postcosecha del fruto. Su sabor es complejo, con acidez viva y con un post-gusto vibrante en el paladar. Su aroma es característico y extraordinario, persistente y atractivo (Secretaría de Agricultura y Minería, 2010).

Mercado de la gulupa

Desde el 2012 se puede observar un crecimiento en la exportación de gulupa, tanto en su valor como en el peso neto exportado. En el 2017, el valor de las exportaciones incrementó en un 2,58% mientras que el peso neto en kilogramos de la gulupa vendidos en el exterior

fue de 3,45%. La producción de gulupa se ha recuperado en el 2016 después de haberse mantenido estable durante el periodo 2012-2015. Las toneladas producidas pasaron de 6110 en el 2012 a 15945,7 en 2016 y el área cultivada saltó de 538,9 hectáreas a 1.000,16 hectáreas en el mismo periodo, representando un incremento de 160,97% y 85,85%, respectivamente. Los departamentos de mayor importancia en la industria de la gulupa son Antioquia, Cundinamarca, Tolima y Santander: en el 2016, la producción de estas cuatro regiones tuvo un 90% de participación en las toneladas producidas y 81% de los cultivos destinados a la gulupa (ANALDEX, 2017).

Antioxidantes en la gulupa

Carvajal et al. (2011), trabajaron en la determinación de la capacidad antioxidante de algunas especies de Passiflora, entre esas la gulupa mediante la aplicación de tres métodos: FRAP, ABTS^{•+} y DPPH. Los resultados obtenidos sugirieron que esta fruta presentaba una actividad antioxidante equivalente de 408,943 mg ácido ascórbico/100 g extracto seco, 42,342 TEAC ($\mu\text{mol trolox}/100 \text{ g extracto seco}$) y 20,0721 TEAC ($\mu\text{mol trolox}/100 \text{ g extracto seco}$) respectivamente; este estudio concluye que entre las seis especies evaluadas la gulupa obtuvo la mayor capacidad antioxidante en los tres métodos.

Meneses et al. (2019), realizó un estudio utilizando el epicarpo de gulupa (subproducto con alto potencial en antioxidantes como las antocianinas), en donde cuantifico su capacidad antioxidante y realizar la cinética de degradación de antocianinas monoméricas durante el almacenamiento a tres temperaturas. En consecuencia, se obtuvo un extracto con un contenido de antocianinas de $165 \pm 9 \text{ mg cianidina-3-O-glucosido/L}$. La capacidad antioxidante fue de 464 ± 19 y $366 \pm 7 \mu\text{mol Trolox}/100 \text{ g de extracto}$, según los ensayos

FRAP y DPPH respectivamente, y un contenido de vitamina C de $2,07 \pm 0,04$ mg ácido ascórbico/100 g de extracto. Estos concluyeron que es posible obtener, a partir del epicarpio de gulupa, extractos ricos en compuestos de alto valor como las antocianinas, los cuales son afectados por la temperatura de almacenamiento, siendo este un factor para considerar durante su aplicación en matrices alimentarias.

3.2.3. Refrescos de fruta

La NTC 3549 define el refresco de fruta como un “producto elaborado con frutas frescas o jugos o pulpa de frutas frescas o con concentrados de frutas reconstituidos o con pulpas deshidratadas reconstituidas, adicionado con agua potable, (según la legislación nacional vigente), con edulcorantes, saborizantes, y otros aditivos, sometidos a un tratamiento de conservación adecuado”.

Según la resolución 3929 del Ministerio de Salud se denomina refresco el producto elaborado a partir de jugo o pulpa de frutas concentrada o no o la mezcla de estos, con un contenido mínimo de fruta del 8%, adicionado con agua y aditivos permitidos, sometidos a un tratamiento de conservación. Los refrescos de frutas deben tener el color, aroma y sabor característicos del zumo (jugo) o pulpa de fruta concentrados o no, clarificados o no o la mezcla de estos del mismo tipo de fruta de la que proceden.

Mercado de los refrescos de fruta

Tomarse una gaseosa, un jugo o un té, puede ser la actividad más común para cualquier colombiano, pero detrás del consumo de estas bebidas se encuentra un mercado que en el último año superaron los \$3,5 billones en ventas y los 2.000 millones de litros. Este sector

tuvo un crecimiento de 9% en 2014, frente al dato de 2013. La innovación es uno de los factores más importantes en esta industria, especialmente en el de las gaseosas, ya que debe adaptarse frecuentemente a las nuevas tendencias de los consumidores.

El mercado de las bebidas no alcohólicas, listas para consumir, está compuesto de acuerdo con sus volúmenes de ventas por: bebidas gaseosas 64%; los jugos de frutas 17%; el agua embotellada 9%; el té, con un 3%; las bebidas energizantes 4% e isotónicas, con un 3%. Sergio Mattos, gerente de la industria de bebidas de Nielsen Colombia, explica que el crecimiento de mercado de bebidas no alcohólicas en Colombia (9%) es positivo pues supera en 5 puntos porcentuales el que presentan los otros productos de consumo en el país, que es de un 4%. El crecimiento de los precios es de un 8% al año (El Heraldó, 2015).

3.3. Marco legal

NORMA TECNICA COLOMBIANA 3314

Esta norma define los términos más comúnmente utilizados en relación con el café y sus productos (ICONTEC, 1992).

NORMA TECNICA COLOMBIANA 3549

Esta norma establece los requisitos y los ensayos que deben cumplir los refrescos de frutas (ICONTEC, 1999).

NORMA TECNICA COLOMBIANA 3929

Esta norma establece los métodos de perfil del sabor para un análisis sensorial (ICONTEC, 2009).

NORMA TECNICA COLOMBIANA 5938

Esta norma establece los requisitos y los métodos de ensayo que debe cumplir el café verde para uso industrial, obtenido de la trilla del café arábica (ICONTEC, 2012).

RESOLUCION 333 de 2011

Ministerio de la Protección Social, resolución 333 de 2011. Relacionada con alimentos para consumo humano envasados o empacados, en cuyos rótulos o etiquetas se declare información nutricional, propiedades nutricionales, propiedades de salud, o cuando su descripción produzca el mismo efecto de las declaraciones de propiedades nutricionales o de salud, esto con el fin de proporcionar al consumidor una información nutricional lo suficientemente clara y comprensible sobre el producto, que no induzca a engaño o confusión y le permita efectuar una elección informada (Ministerio de Salud y Protección Social, resolución 333, 2011).

RESOLUCION 3929 de 2013

Ministerio de Salud y Protección social. La presente resolución tiene como objeto, establecer el reglamento técnico, mediante el cual se señalan los requisitos sanitarios, que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de estos que se procesen, empaquen, transporten, importen, y comercialicen en territorios nacionales, con el fin de proteger la salud humana y prevenir posible daños a la misma, así como las practicas que puedan inducir a error a los consumidores (Ministerio de Salud y Protección Social, resolución 3929, 2013).

4. Antecedentes

Como antecedentes del presente proyecto se realizó una revisión bibliográfica de estudios en donde se tratarán temas relacionados con la producción de bebidas a base de café verde, medición del contenido de antioxidantes en bebidas o implementación de la gulupa en el desarrollo de productos alimenticios. Entre los documentos encontrados y utilizados como revisión bibliográfica, se tomaron como base artículos y estudios externos a la institución, y estudios y proyectos realizados por estudiantes de la Universidad de La Salle.

De acuerdo a lo publicado por Zuluaga et al. (2015), en su artículo “Desarrollo de un refresco a partir de la mezcla de fresa (*Fragaria ananassa*), mora (*Rubus glaucus*), gulupa (*Passiflora edulis* Sims) y uchuva (*Physalis peruviana* L.) fortificado con hierro dirigido a niños en edad preescolar”, trabajando con gulupa en un estado de madurez de 6 a 9 (sobremadurado, con un 75% de tonalidad púrpura), humedad de 73,3 %, sólidos solubles 15 °Brix , acidez de 3,5 g ácido cítrico/100 ml, pH 2,9, esta aportaba un contenido de hierro de 0,6mg/100g de pulpa y un contenido de vitamina C de 22,9 mg/100g de pulpa. Este artículo es tomado en cuenta para la selección de las características de la gulupa, que se empleó en este estudio. Adicionalmente, en este trabajo se mencionaron los requisitos establecidos en la normativa colombiana para la producción de refrescos.

De otro lado, Jimenez et al. (2012), en su artículo “Optimización del método captación del radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café”, determinaron la actividad antioxidante de los compuestos presentes en el café que le confieren propiedades antioxidantes, esto se logró mediante una optimización del ensayo DPPH y el uso de muestras de la bebida de café obtenida a partir de métodos convencionales

de preparación, variando: tipos de cafetera (filtro, expreso e italiana), origen del café (Colombia, Kenia y Etiopía) y tipo de café (normal y descafeinado). Los datos de actividad antioxidante obtenidos muestran una elevada capacidad antioxidante con porcentajes de inhibición superior a 50 % destacando el café colombiano, Etíope y Keniano elaborados con cafetera de filtro, que registraron % de inhibición de radicales libres de 70,56%, 73,52% y 73,65% respectivamente. También, se estableció como resultado de este estudio que la actividad antioxidante de la bebida no varía en función de la procedencia del café ni del contenido de cafeína que presenta, pero puede variar de acuerdo a los dispositivos utilizados para su elaboración.

Así mismo, Marín & Puerta (2008), en su estudio determinaron las diferencias en la composición química del café de Colombia según los estados del desarrollo del fruto. Esto es realizado por el método de espectrofotometría y cromatografía para diferentes variedades de café, obteniendo como resultado que el café maduro arábica maduro presentó 6,23% de CGAT y el Robusta 8,85%, contenidos que estadísticamente muestran gran diferencia. Adicionalmente se evidenció que el contenido de los ácidos clorogénicos no permite una discriminación inequívoca entre los factores genéticos, ni de madurez del café.

Acorde al tema tratado en este estudio, Naranjo et al. (2011), en su artículo “Actividad antioxidante de café colombiano en diferentes calidades”, evaluaron la capacidad antioxidante y componentes de los extractos acuosos de café verde colombiano tipo arábica de cinco condiciones de calidad diferentes, provenientes de la región de Antioquia, Colombia, suministradas por COLCAFE S.A.S., obteniendo como resultados su similitud en cantidad de fenoles totales. Adicionalmente, se determinó que el café “excelso (café al que

se le remueve el pergamino y se selecciona) UGC (grano más grande que llega sobre malla de 12 y es denominado premium)” posee mayores concentraciones de ácidos fenólicos con $12224,6 \pm 550,0$ TEAC $\mu\text{mol Trolox/L}$ y el más bajo para la muestra con un valor de $9955,9 \pm 320,0$ mmol Trolox/L bebida café. Entre todas las calidades se seleccionó el café UGQ como la calidad de café colombiano con mayor potencial antioxidante; es por esto que se realizó un perfil cromatográfico por HPLC de algunos ácidos orgánicos determinantes de las propiedades antioxidantes en éste, encontrando la siguiente composición: ácido elágico $65,2 \pm 2,0$ mg/L, ácido clorogénico $31,9 \pm 1,8$ mg/L y ácido cafeico $18,8 \pm 0,8$ mg/L.

También se encontró un estudio asociado a la extracción de cafeína del café (*Coffea arabica*) por fluidos súper críticos, en donde se buscó determinar las condiciones apropiadas para la extracción de cafeína del café. En este caso se variaron condiciones de presión y temperatura, principales parámetros que influyen en la extracción de la cafeína, obteniendo como resultado que el proceso de descafeinización, aunque no se logra una remoción total, sino una parcial aproximadamente de 42% (Hincapié, 2013).

En cuanto al artículo “Aprovechamiento de la pulpa de café como alternativa de valorización de subproductos”, se ha encontrado el uso de la pulpa como fuente de antioxidantes. Los autores (Serna et al., 2018), en su trabajo tomaron 3,3 g de pulpa de café seco y los colocaron en una tela filtrante. La pulpa fue sumergida en 250 ml de agua potable (utilizada como solvente), durante un tiempo de 4,5 min y a una temperatura de 90°C encontrando que estas condiciones ejercen un efecto significativo (p-value 0,005) sobre la capacidad antioxidante de la infusión. En relación a la temperatura de extracción es posible afirmar que la capacidad

antioxidante es proporcional al aumento de la temperatura, lo cual se relaciona con un incremento de la solubilidad de los compuestos antioxidantes.

De otro lado, en el artículo “Aprovechamiento del grano de café verde (*Coffea arabica*) en la elaboración de una bebida refrescante”, se encontró que la mejor forma de elaborar la bebida partía de la adición de un 4% de café verde, correspondiente a un extracto obtenido luego de un tiempo de infusión de 10 minutos empleado una solución acuosa a 1000 ppm de ácido cítrico, permitiendo obtener una formulación dentro de los parámetros de calidad establecidos en la normativa nacional de Ecuador (Norma NTE INEN 1081:1984). En cuanto a la concentración de cafeína en el producto se estableció que esta era de 318mg/L y con un índice de oscurecimiento de 22,41 (Llerena, Solís, & Guerrero, 2018).

Adicionalmente, respecto a la elaboración de bebidas refrescantes, se encontró la tesis “Evaluación de la actividad antioxidante de una bebida refrescante a base de lactosuero adicionada con pulpa de curuba (*Passiflora mollissima* Bailey)”, durante su almacenamiento. En dicho documento se propone caracterizar bromatológica y fisicoquímicamente el lactosuero reconstituido en sus propiedades (proteínas, grasa, lactosa, pH y acidez) y con este elaborar una bebida adicionada con pulpa de curuba como fuente de compuestos antioxidantes (Morales & Vivas, 2015).

5. Metodología

Esta investigación se desarrolló en 3 etapas: en la etapa 1 obtuvo la infusión de café verde y se realizó la correspondiente caracterización fisicoquímica y cuantificación de antioxidantes y de cafeína de esta, en la etapa 2 se realizó la extracción de la pulpa de gulupa, a la cual se le realizó una caracterización fisicoquímica y de actividad antioxidante. Cuando se tuvieron listas la infusión de café verde y la pulpa, se procedió a la ejecución de la etapa 3 en la cual se prepararon los tratamientos con las diferentes concentraciones de la infusión de café, en esta etapa también se determinó el efecto de esta variación sobre la actividad antioxidante y se evaluó la aceptación sensorial de los tratamientos en un grupo poblacional específico.

A continuación, se explican las etapas antes mencionadas.

5.1. ETAPA 1: Elaboración y caracterización de la infusión de café verde.

El café verde utilizado es de variedad arábica, obtenido en Fredonia (Antioquia), finca “La Milagrosa” en un estado de desarrollo maduro, con tipo de beneficio por fermentación natural (tabla 1), en donde se realizó todo el proceso correspondiente de recolección, desplomado, secado y molido. Para la obtención de la infusión se utilizó una relación de 1:25, se tomó el café verde seco molido y se colocó en agua potable (utilizada como solvente), a 90°C, durante 10 min (anexo 1).

5.1.1. Caracterizaciones fisicoquímicas de la infusión de café verde.

5.1.1.1. % Acidez titulable

Esta prueba se realizó teniendo en cuenta el método de AOAC 942.15. Se tomaron 25 mL de la muestra (infusión de café) y se le adicionaron 0,25 mL de fenolftaleína, luego se tituló con NaOH al 0,1 N, hasta que se obtuviera una variación de color, esta prueba se realizó por triplicado.

5.1.1.2. pH

Esta prueba se realizó teniendo en cuenta la NTC 3549 (2012). Se utilizó el potenciómetro de marca Jenway el cual se encontraba calibrado y 25 mL de la infusión de café, muestra a la que se le introdujeron los electrodos. La prueba se realizó por triplicado.

5.1.1.3. °Brix

Esta prueba se realizó siguiendo la NTC 4624 (1999) para jugos de frutas y hortalizas, en donde se tomó 0,15 mL de la muestra, se colocaron sobre el prisma inferior del refractómetro y se esperó unos segundos hasta que alcanzó su equilibrio térmico, y se hizo el registro de los °Brix.

5.1.2. Cuantificación de actividad antioxidante y cafeína en la infusión de café

5.1.2.1. Cuantificación de cafeína

Se tomaron 4 mL de la infusión y se les adicionaron 100 mL de agua destilada, se incorporaron 3 g de carbonato de sodio, a esta solución se le adicionaron 25 mL de cloruro de metileno y se mezclaron 10 min, se incorporó la solución a un embudo separador y en un Beaker de 50 mL se tomó la parte inferior. A ésta se le adicionaron 0,1g de sulfato de sodio mezclándolo cuidadosamente, se filtró la solución hacia un Beaker de 250 mL, y el filtrado se incubó a 45°C hasta evaporar por completo el cloruro de metileno, se añadieron 100 mL de agua destilada y se leyó la absorbancia a 272 nm en un espectrofotómetro Bote Synergy HT. La curva de calibración se realizó con cafeína (99% pureza), tomando volúmenes de 0 – 500 µL y se completó el volumen de cada uno a 500 µL con agua destilada. Se realizaron los ensayos por triplicado (Hincapié, 2013).

5.1.2.2. Cuantificación de la capacidad antioxidante por FRAP (Método espectrofotométrico)

Se preparó la solución FRAP mezclando 25 mL de buffer de acetato (1,3 g de acetato de sodio trihidratado y 16 mL de ácido acético glacial por litro), 2,5 mL de la solución de TPTZ y 2,5 mL de FeCl_3 ; posteriormente se mezcló 1 mL de la solución antes preparada (FRAP) con 50 μL de la muestra a evaluar y se llevó a baño maría (37°C) durante media hora, luego se procedió a realizar la lectura de la absorbancia a 593 nm, esto con el fin de determinar la capacidad antioxidante que puede aportar el producto (Hincapié, 2013).

5.1.2.3. Cuantificación de capacidad antioxidante por DPPH (método espectrofotométrico)

Esta determinación se realizó por medio de la prueba de DPPH siguiendo la técnica establecida por el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de La Salle, para esto se pesaron 20 mg de la infusión, se realizó dilución en 10 mL de agua destilada de esta dilución. Se tomaron 500 μL y se le adicionaron 2 mL del reactivo DPPH 0,1 mM, posteriormente se dejó en reposo por 30 minutos en oscuridad a 25°C . La absorbancia fue determinada a 517 nm. Los resultados fueron expresados en mM TEAC/g de pulpa seca.

La curva de calibración que se realizó para la cuantificación de antioxidantes por ambos métodos se realizó con solución de Trolox (0,139 mM), tomando volúmenes de 0 – 500 μL y se completó el volumen de cada uno a 500 μL con agua destilada. Se realizaron los ensayos por triplicado (Muñoz et al, 2015).

Tabla 3 Curva de calibración

Curva de Calibración	
Sln. Trolox 0,139 Mm	Agua
0	500
50	450
100	400
200	300
300	200
400	100
500	0

5.2. ETAPA 2: Obtención y caracterización de la pulpa de gulupa

Para la obtención de la pulpa, la fruta fue comprada a la empresa Ocati, quienes se encargan de hacer la selección y clasificación de la misma con el fin de entregar fruta de calidad. Sin embargo, luego de obtener esta fruta para la obtención de la pulpa, se realizó una nueva selección con el fin de retirar fruta en mal estado en caso de haberlo y se clasifico para que toda se encontrara en un mismo estado de madurez. Seguido a esto se lavó y desinfectó con Timsen al 1% durante 5 min y se volvió a lavar con agua potable, se prosiguió al corte y retiro de la cascara de la fruta. Finalmente, se pasó por la despulpadora para hacer el correspondiente tamizado y refinado de la pulpa, retirando así las semillas presentes (anexo 1).

5.2.1. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de gulupa

5.2.1.1. % Acidez titulable

La acidez de la pulpa de gulupa se determinó siguiendo la metodología del numeral 5.1.1.1, la prueba se realizó por triplicado.

5.2.1.2. pH

El pH de la pulpa de gulupa se determinó siguiendo la metodología del numeral 5.1.1.2, la prueba se realizó por triplicado.

5.2.1.3. °Brix

Los grados Brix de la pulpa de gulupa se determinaron siguiendo la metodología del numeral 5.1.1.3, la prueba se realizó por triplicado.

5.2.2. Cuantificación actividad antioxidante de la pulpa de gulupa

5.2.2.1. Método FRAP (poder antioxidante reductor del hierro)

La determinación de la capacidad antioxidante por medio del método FRAP para la pulpa de gulupa, se realizó siguiendo la metodología del numeral 5.1.2.2, la prueba se realizó por triplicado.

5.2.2.2. Determinación de capacidad antioxidante por DPPH (método espectrofotométrico)

La determinación de la capacidad antioxidante para la pulpa de gulupa, se realizó por medio de la prueba de DPPH siguiendo la técnica establecida por el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de La Salle, mencionado anteriormente en el numeral 5.1.2.3, la prueba se realizó por triplicado.

5.3. ETAPA 3: Elaboración y caracterización del refresco

Para la elaboración de los refrescos, se mezcló pulpa de gulupa, infusión de café y agua potable en distintas proporciones, separándose así en 4 tratamientos (T1, T2, T3, T4) como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Tratamientos del estudio

Tratamiento	Proporción Agua - Infusión
T1	0% infusión de café verde, 100% agua (Patrón)
T2	100% infusión de café verde, 0% agua
T3	50% infusión de café verde, 50% agua
T4	75% infusión de café verde, 25% agua.

Cabe resaltar que la cantidad de agua – infusión dentro de la formulación presenta un porcentaje diferente ya que esta se completa con el porcentaje de pulpa y azúcar correspondiente para cumplir con lo establecido para este tipo de bebidas (tabla 5). El contenido de pulpa adicionado como ya se mencionó anteriormente es del 8% dado que este es el límite establecido para denominar la bebida como refresco. En cuanto a la cantidad de azúcar adicionada depende de la cantidad de sólidos solubles que se estén aportando por la infusión de café verde, por lo cual en cada tratamiento este valor cambia para poder llegar a un valor total de sólidos solubles de 11, de tal modo que no se supere la cantidad establecida en la norma. Se prepararon 3 L de cada formulación que se envasaron en recipientes de 1 L. Luego de su preparación los tratamientos se pasteurizaron a una temperatura de 97 °C por 30 seg (anexo 1). La formulación detallada para cada tratamiento se encuentra en los anexos 2, 3, 4 y 5.

Tabla 5. Porcentaje y peso de componentes correspondiente de cada tratamiento.

Ingredientes	Tratamiento							
	T1		T2		T3		T4	
	%	Masa (g)	%	Masa (g)	%	Masa (g)	%	Masa (g)
Agua	82,2	2466		0	41,1	1233	21,4	644
Infusión		0	82,2	2466	41,1	1233	61,7	1849,5
Azúcar	9,8	294	8,57	257,01	9,18	275,5	8,81	266,5
Gulupa	8	240	8	240	8	240	8	240

Luego de obtener los resultados correspondientes a la caracterización fisicoquímica que se presentará más adelante, se procedió a realizar los análisis estadísticos por medio de un análisis de varianza ANOVA para identificar si se encontraban diferencias significativas entre los tratamientos. De encontrarse diferencias significativas, se procedió a realizar una prueba de Tukey para identificar cuales muestras presentaban diferencias y así mismo separar por grupos las muestras.

5.3.1. Caracterización fisicoquímica de los refrescos

5.3.1.1. % Acidez titulable

La acidez de la pulpa de gulupa se determinó siguiendo la metodología del numeral 5.1.1.1, a la prueba se realizó por triplicado.

5.3.1.2. pH

La acidez de la pulpa de gulupa se determinó siguiendo la metodología del numeral 5.1.1.1, la prueba se realizó por triplicado.

5.3.1.3. °Brix

Los grados Brix de la pulpa de gulupa se determinó siguiendo la metodología del numeral 5.1.1.3, la prueba se realizó por triplicado.

5.3.2. Cuantificación de actividad antioxidante y cafeína en el refresco

5.3.2.1. Cuantificación de cantidad de cafeína

Para determinar la cafeína de los distintos tratamientos se realizó un balance tomando como base el valor de cafeína obtenido en la infusión y el contenido de esta en la formulación de cada muestra. De esta manera se determinó la cafeína que existe en el T2, T3 y T4.

5.3.2.2. Cuantificación de poder antioxidante reductor del hierro (Método FRAP)

La determinación de la capacidad antioxidante por medio del método FRAP para la pulpa de gulupa, se realizó siguiendo la metodología del numeral 5.1.2.2, la prueba se realizó por triplicado.

5.3.2.3. Cuantificación de capacidad antioxidante por DPPH (método espectrofotométrico)

La determinación de la capacidad antioxidante para la pulpa de gulupa, se realizó por medio de la prueba de DPPH siguiendo la técnica establecida por el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de La Salle, mencionado anteriormente en el numeral 5.1.2.3, la prueba se realizó por triplicado.

5.4. Pruebas sensoriales

A los distintos tratamientos se les realizaron pruebas sensoriales de tipo afectivas, puntualmente pruebas de aceptación con escala hedónica verbal, la cual se aplicó a un panel

no entrenado de 60 personas de acuerdo a la NTC 3929. Esta prueba consistió en que los panelistas den un informe de su grado de satisfacción frente al producto, la escala verbal va desde me gusta muchísimo hasta me disgusta muchísimo como se puede observar a continuación (figura 1) (Hernandez, 2005).



NOMBRE: _____ FECHA: _____

NOMBRE DEL PRODUCTO: _____

Frente a usted hay cuatro muestras de un refresco, pruébelas una a una y por favor califique de 1 a 5 siendo 1: me disgusta mucho, 2: me disgusta ligeramente, 3: ni me gusta, ni me disgusta, 4: me gusta ligeramente y 5: me gusta mucho, los siguientes parámetros:

	523	561	023	891
APARIENCIA GENERAL				
COLOR				
AROMA				
SABOR				

COMENTARIOS: _____

¡MUCHAS GRACIAS!

Figura 1. Prueba sensorial aplicada a panelistas

Una vez obtenido los resultados de las pruebas sensoriales, se procedió a realizar un análisis estadístico para pruebas no paramétricas por el método de Kruskal – Wallis, para identificar si se encontraban diferencias significativas entre los tratamientos. Adicionalmente se realizó un diagrama de araña para apreciar las diferencias entre los tratamientos.

5.5. Diseño experimental

Para realizar el diseño experimental, se tomaron en cuenta distintas variables, de las que se puede señalar como independiente la cantidad de la infusión de café en la formulación de la bebida y por ende la cafeína de esta y como dependiente, las características fisicoquímicas evaluadas en la bebida, y su capacidad antioxidante.

Los procedimientos utilizados para realizar la caracterización de cada bebida de realizar de la siguiente manera:

Tabla 6 Cantidad de pruebas a realizar respecto a cada tratamiento

Variables independientes	Variables dependientes					Variables constantes	
Tratamiento	°Brix	pH	Acidez	Antiox. DPPH	Antiox. FRAP	Cafeína	Sensorial
T1	3	3	3	3	3	0	1 (60 panelistas)
T2	3	3	3	3	3	3	1 (60 panelistas)
T3	3	3	3	3	3	3	1 (60 panelistas)
T4	3	3	3	3	3	3	1 (60 panelistas)

En la tabla 6 se puede observar el número de pruebas que se realizó por tratamiento y por prueba; esto para un total de 16 pruebas para en T1 (patrón), 19 pruebas para el T2, 19 pruebas para el T3 y 19 pruebas para el T4, esto para un total de 73 pruebas que se realizaron en el laboratorio, con el fin de cumplir el objetivo planteado anteriormente.

El análisis estadístico empleado para las pruebas fisicoquímicas fue un análisis de varianza (ANOVA), que permitio establecer si existen o no diferencias significativas en las variables

medidas debido a la composición de la formulación, se tuvo en cuenta entonces las siguientes hipótesis:

- La formulación de la bebida desarrollada utilizando la infusión de café verde presenta un efecto significativo sobre la variable estudiada (la cantidad de antioxidantes, pH, °Brix).
- La bebida desarrollada utilizando la infusión de café verde no presenta un efecto significativo sobre la variable estudiada (la cantidad de antioxidantes, pH, °Brix).

En caso de encontrar diferencias significativas, se aplicaron pruebas de comparación por el método de Tukey.

El diseño experimental para las pruebas sensoriales, se desarrolló aplicando el método estadístico de Kruskal -Wallis dado que son pruebas no paramétricas.

6. Resultados y discusión

6.1. ETAPA 1: Resultados de caracterización de la infusión de café verde.

El café verde se refiere al grano resultante luego de terminado el tratamiento primario del café, este producto es el que se tiene antes de tostar. A continuación, se presenta la caracterización fisicoquímica y la cuantificación de cafeína y antioxidantes de la infusión de café verde, con el fin de conocer su estado antes de la incorporación a los tratamientos evaluados.

Tabla 7. Caracterización de la infusión de café verde

PRUEBA	RESULTADO
%Acidez	$0,043 \pm 0,0020$
pH	$5,647 \pm 0,0058$
°Brix	$1,133 \pm 0,058$
Cafeína (mg/L)	0,1256
Antioxidantes FRAP	0,0906
Antioxidantes DPPH	0,069

En la siguiente sección, se discutirá cada uno de estos resultados.

6.1.1. Pruebas fisicoquímicas a la infusión de café verde.

6.1.1.1. % Acidez titulable

De acuerdo a lo obtenido en la caracterización de la infusión del café verde, se obtuvo que esta tiene un % acidez de $0,043 \pm 0,0020$ reportada en ácido cítrico. De acuerdo a los datos reportados por Macias y Riaño (2002), el café verde se debe encontrar en un intervalo de % acidez de $0,735 - 0,815$. Así mismo, se encuentran otros valores teóricos reportados por Castaño y Quintero (2004) que indican que este debe estar en un rango de 0,94 a 1,19. De acuerdo a estos resultados teóricos, se encuentra que el %acidez de la infusión se encuentra por debajo de dichos intervalo en gran medida lo cual puede deberse a la variedad del café, el proceso de poscosecha y tratamiento del grano, la granulometría del café verde molido y

el proceso de obtención de la infusión, dado al momento de la extracción las condiciones de temperatura, tamaño del grano y tiempos en el proceso pueden influir en la transferencia de masa, variando así las características de la infusión experimental, frente a las muestras tomadas para la obtención de los correspondientes resultados teóricos.

6.1.1.2. pH

El pH de la infusión del café verde que se obtiene luego de la caracterización es de $5,647 \pm 0,0058$, valor que se encuentra por debajo del rango reportado por Castaño y Quintero (2004), que es de 5,9 a 6,38. En este, la diferencia no es tan amplia, mostrando que el valor de pH teóricamente es mayor, pero puede deberse a características de los cafés evaluados, así como de los tratamientos a los que fueron sometidos, entre esos el manejo que se le dio al grano. Por el contrario, de acuerdo a Macías y Riaño (2002), el rango óptimo de pH es de 5,08 – 5,10, rango en el cual el resultado experimental se encuentra, mostrando así que el café verde utilizado, presenta características acorde a su estado de madurez y calidad y no se vio afectado por plagas tales como la broca quienes alteran el pH del café (Castaño y Quintero, 2004).

6.1.1.3. °Brix

De acuerdo a lo obtenido en la caracterización de la infusión del café verde, se encuentra que esta tiene $1,133 \pm 0,058$ °Brix. Al compararse con los datos teóricos reportados por (Cenicafé, 2011), se encuentra que al utilizar 7g / 100mL de agua, los °Brix deben ser aproximadamente 1,25, valor que se encuentra por encima del valor experimental. Sin embargo, dichos valores teórico – experimental no presentan gran diferencia, y esta puede deberse a la cantidad de agua utilizada para la obtención de la infusión, ya que, a mayor contenido de esta, los °Brix

disminuyen. Así mismo, se debe tener en cuenta la cantidad de °Brix que posee el café antes de la infusión, la variedad de este y su estado de madurez, dado que los °brix aumentan conforme pasan los días después de la floración y por ende el momento en el que fue cosechado (López et al, 2003). Se puede decir que los °Brix se encuentran en un valor adecuado para la infusión.

6.1.2. Determinación de cafeína y actividad antioxidante en la infusión de café verde

6.1.2.1. Determinación de la cantidad de cafeína

El valor obtenido de cafeína para la infusión de café verde es de 0,01256 mg/L, según este resultado las formulaciones quedaron de la misma manera que fueron establecidas en la metodología, anteriormente se aclaró que estos tratamientos se utilizarían en caso de que la cafeína se encontrara en el rango permitido para una bebida (250 mg/L), esto quiere decir que todos los tratamientos se encuentran en el rango permitido para una bebida con cafeína.

Para los adultos sanos, la FDA en su artículo Al grano: ¿cuánta cafeína es demasiada?, ha mencionado 400 mg/día que son de cuatro a cinco tazas de café como una cantidad que en general no se relaciona con efectos negativos peligrosos. Sin embargo, hay un amplio grado de variación en lo sensibles que son las personas a los efectos de la cafeína y qué tan rápido la metabolizan (asimilan), es por esto que una bebida que contenga cafeína debe contener máximo 250 mg/L. La FDA no ha establecido un nivel para los niños, pero la Academia Americana de pediatría desaconseja el consumo de cafeína u otros estimulantes por parte de los niños y adolescentes (FDA, 2018).

6.1.2.2. Determinación de la capacidad antioxidante por FRAP y DPPH

(Método espectrofotométrico)

Según Avello, Suwalsky (2016) en el artículo *Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección*, la actividad antioxidante en un alimento está relacionada con la capacidad de ciertos compuestos (fenoles, flavonoides, vitaminas) para atrapar radicales libres, para este caso se determinó la capacidad antioxidante de una infusión de café verde con un valor de 0,0906 mg/L para FRAP y 0,07 mg/L para DPPH. Según Londoño, Naranjo, Quintero (2013), en el artículo *Estudio de los cambios de la actividad antioxidante en bebidas de café durante su periodo de vida útil usando métodos in-vitro y ex-vivo*, una de las sustancias fenólicas relacionadas con el aporte a la actividad antioxidante en café son los ácidos clorogénicos los cuales están presentes principalmente en el grano verde y se degradan a través del proceso de tueste por acción de la temperatura para dar lugar a las características sensoriales, concluyeron que la actividad antioxidante depende principalmente de la composición química, incluso más que del grado de tueste. Adicionalmente implementaron dos métodos para la determinación de la actividad antioxidante en el café los cuales fueron FRAP y DPPH que están fuertemente correlacionados entre sí, como se puede observar en el presente documento donde la actividad antioxidante para estos métodos también se encuentran correlacionadas, según lo anterior se eligió el café verde como base para la bebida refrescante ya que la mayoría de estudios confirman que el café verde tiene mayor capacidad antioxidante que el café tostado, como es el caso de la revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha en su artículo *Contenido de fenoles, cafeína y capacidad antioxidante de granos de café verdes y tostados en diferentes estados de México*, donde pueden concluir que la disminución en el contenido de ácido clorogénico afecta directamente la actividad

antioxidante, donde se observó decremento en este parámetro en los granos de café con niveles de mayor tostado (Lazcano et al, 2015).

6.2. ETAPA 2: Resultados de caracterización de la pulpa de gulupa

A continuación, se presenta la caracterización fisicoquímica y la cuantificación de antioxidantes de la pulpa de gulupa, con el fin de conocer su estado antes de la incorporación a los tratamientos evaluados.

Tabla 8. Caracterización de la pulpa de gulupa

PRUEBA	RESULTADO
%Acidez	$3,75 \pm 0,0416$
pH	$2,95 \pm 0,012$
°Brix	$16,5 \pm 0,115$
Antioxidantes FRAP	0,038
Antioxidantes DPPH	0,032

6.2.1. Pruebas fisicoquímicas a la pulpa de gulupa

6.2.1.1. % Acidez titulable

Las pruebas fisicoquímicas de la gulupa, muestran que el % de acidez titulable en la pulpa es de $3,75 \pm 0,0416$ reportado en ácido cítrico. De acuerdo a lo encontrado teóricamente se obtiene que este valor debe ser de $3,5 \pm 0,18$ según Zuluaga et al. (2015), 3,1 a 4,4 según Franco (2013) o 2,5 a 5 según Orjuela et al (2011). Teniendo en cuenta estos valores teóricos reportados, el % de acidez de la pulpa se encuentra en un estado óptimo de madurez, en el cual presenta su superficie con el color correspondiente en un 100% (morado). Sin embargo, se debe aclarar que la resolución 3929 (2013) no establece un valor de % acidez para esta fruta en específico, ya que establece que la fruta tiene un valor característico. Los rangos de % acidez dados en la teoría especifican que estos valores pueden variar de acuerdo al estado de madurez de la fruta.

6.2.1.2. pH

El pH de la pulpa caracterizada fue de $2,95 \pm 0,012$. Según la teoría, Zuluaga et al. (2015), reporta un valor de pH de $2,9 \pm 0,09$, Franco (2013) un rango de 2.99 – 3,6 y Orjuela et al (2011) un rango de 2,5 – 3.3. Dichos valores corresponden a frutos en un estado maduro, que presenta mas de un 75% de la superficie con tonalidad morada, al igual que la fruta evaluada experimentalmente, por lo cual se puede deducir que esta se encontraba en condiciones aptas y en el mismo estado de madurez, ya que el valor de pH se encuentra muy cercano o dentro de los rangos teóricos cercano al 2,9.

6.2.1.3. °Brix

Los °Brix que se obtuvieron experimentalmente al evaluar la pulpa fueron $16,5 \pm 0,115$. Teóricamente, Franco (2013) reporta un rango de 13 -17 y Orjuela et al (2011) un rango de 13 – 18. De acuerdo a estos resultados, la fruta se encontraba con los °Brix usuales de esta, ya que presenta un valor cercano a los limites superiores de los rangos. Estos rangos teóricos, vienen dados bajo ciertas condiciones de almacenamiento, pero los autores especifican que estos son los valores ideales de los brix. Adicionalmente, la resolución 3929 de 2013 establece que los °Brix en la pulpa de gulupa es mínimo de 6,8 como valor adecuado para consumo y para producción, viendo que esta pulpa se encontraba apta para dichos fines.

6.2.2. Determinación de capacidad antioxidante por DPPH y FRAP (método espectrofotométrico)

La actividad antioxidante en un alimento está relacionada con la capacidad de ciertos compuestos para atrapar radicales libres, en este caso se determinó la actividad antioxidante

de la pulpa de gulupa por medio de dos métodos DPPH y FRAP, arrojando unos valores de 0,0385 mg/L y 0,0379 mg/L respectivamente. Según el artículo *Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales de la familia pasiflorácease* donde se encuentra la pulpa de gulupa, evaluada en su actividad antioxidante por medio de dos métodos DPPH y FRAP se encontró que los extractos de uchuva y de gulupa presentaron una buena actividad antioxidante por medio de estos métodos, dando como resultado que en los extractos estudiados los que presentaron la mayor actividad antioxidante fueron los correspondientes a las pulpas de frutas de la familia pasiflorácea (curuba y gulupa).

La capacidad antioxidante de la pulpa fue determinada por medio de los ensayos DPPH y FRAP para este ensayo, la pulpa tuvo una capacidad antioxidante de 0,0385 mg/L y 0,0379 mg/L respectivamente, con pequeñas diferencias en el orden de actividad según el ensayo.

Según Gallego (2016) el ensayo FRAP es una medida de capacidad reductora y el DPPH es un radical estable centrado en el nitrógeno, el ensayo es sensible debido al impedimento estérico por diferentes sustituyentes voluminosos en la estructura química alrededor del radical, que produce pequeñas moléculas con diferentes antioxidantes que reaccionan a diferentes velocidades o no reaccionan rápidamente donde los resultados de DDPH generalmente muestra una mayor actividad antioxidante como es el caso de este proyecto.

6.3. ETAPA 3: Resultados de caracterización del refresco

A continuación, se presenta la caracterización fisicoquímica y la cuantificación los tratamientos realizados, los cuales serán descritos en los siguientes numerales.

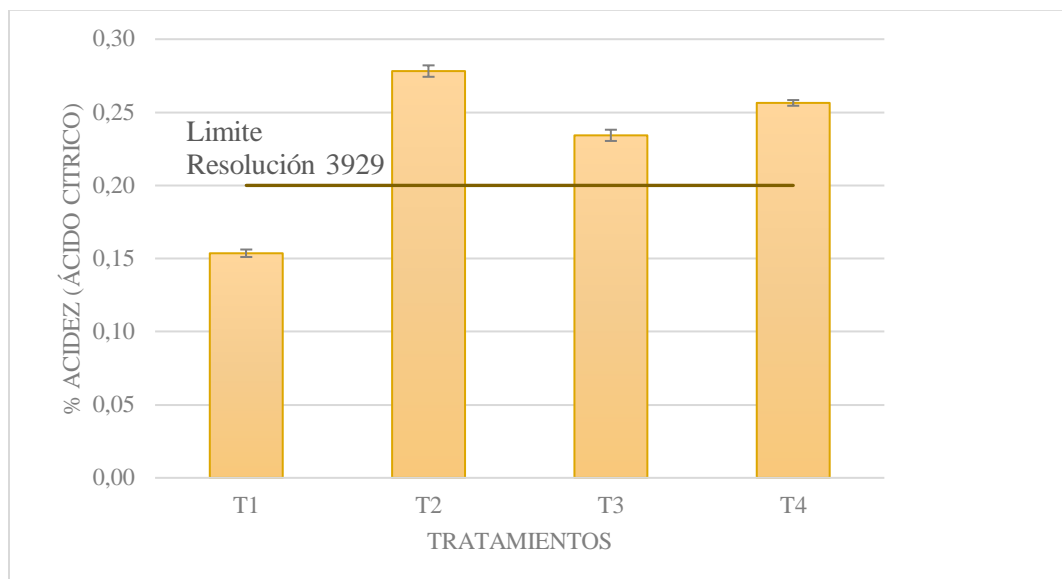
Tabla 9 Caracterización de los tratamientos

PRUEBA	T1	T2	T3	T4
%Acidez	$0,15 \pm 0,0020$	$0,28 \pm 0,0039$	$0,23 \pm 0,0038$	$0,26 \pm 0,002$
pH	$3,81 \pm 0,0058$	$3,32 \pm 0,0058$	$3,73 \pm 0,0058$	$3,57 \pm 0,01$
°Brix	$9,20 \pm 0,058$	$10,13 \pm 0,0577$	$10 \pm 0,1$	$10,07 \pm 0,0577$
Cafeína (mg/L)	0	0,000103	0,000052	0,000077
Antioxidantes DPPH	$0,032 \pm 0,01$	$0,098 \pm 0,001$	$0,059 \pm 0,001$	$0,0833 \pm 0,001$
Antioxidantes FRAP	0,0362	$0,0986 \pm 0,004$	$0,06 \pm 0,004$	$0,075 \pm 0,003$

6.3.1. Caracterización fisicoquímica al refresco

6.3.1.1. % Acidez titulable

Al realizar la caracterización de los tratamientos, se observa que T2 es quien presenta un mayor % acidez titulable reportado en ácido cítrico ($0,28 \pm 0,0039$), seguido a este, se encontró T4, T3 y T1 con $0,26 \pm 0,002$, $0,23 \pm 0,0038$ y $0,15 \pm 0,0020$ respectivamente. Esta diferencia entre % acidez entre tratamientos se debió principalmente a la formulación de cada uno de estos, en cuanto a su contenido de infusión, mostrándose que entre mayor cantidad de café verde así mismo había mayor % acidez. Se observa que, aunque T1 no contiene dentro de su formulación infusión de café verde, este presenta contenido de ácido cítrico; esto se debe a que el 8% de todas las formulaciones corresponde a pulpa de gulupa, la cual aporta dicho porcentaje de ácido. Se realizó en análisis estadístico ANOVA, el cual muestra que T1, T2, T3 y T4 presentan diferencias significativas. Esto se confirma por medio del método de Tukey, que muestra que la diferencia se da entre todas las muestras (anexos 6 y 7).



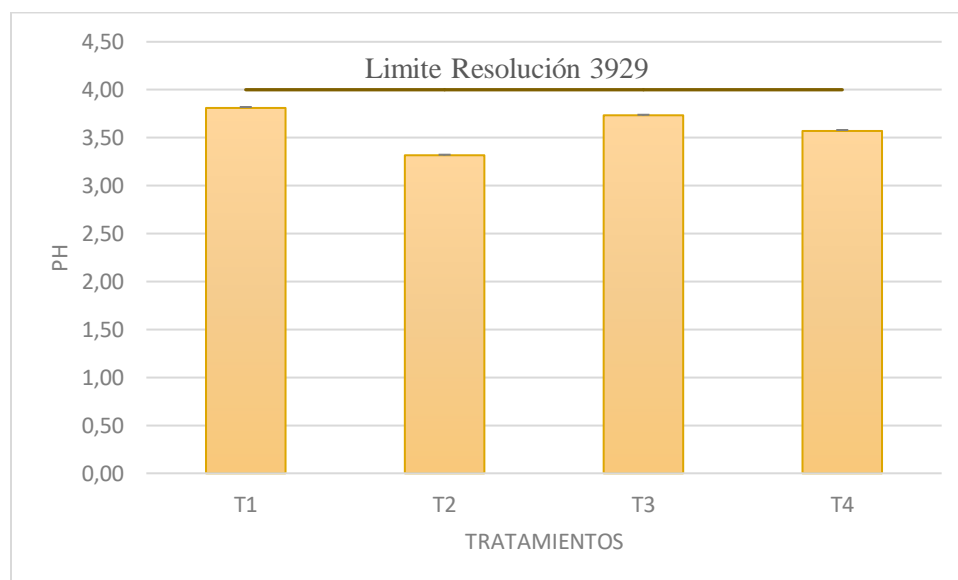
Gráfica 1 Acidez de los tratamientos

Comparando los tratamientos con lo establecido en la resolución 3929, se encuentra que T1 no cuenta con el %acidez mínima que se establece para los refrescos, dado posiblemente por la falta de infusión como ya se menciono anteriormente. Así mismo, T2, T3, T4 si cumplen con este parámetro (gráfica 1).

6.3.1.2. pH

De acuerdo a la caracterización de los tratamientos, se encuentra que T2 presenta el pH mas bajo (más ácido) en $3,32 \pm 0,0058$, y este aumenta en T4, T3 y T1 siendo $3,57 \pm 0,01$, $3,73 \pm 0,0058$ y $3,81 \pm 0,0058$ respectivamente, dependiendo así de la cantidad de infusión que este contenga en su formulación, a mayor cantidad de infusión, menor es el pH del tratamiento. Al igual que para la acidez, se realiza un análisis estadístico ANOVA que indica que T1, T2,

T3 y T4 tienen diferencias significativas, concluyendo que todos los tratamientos son diferentes entre si de acuerdo al método comparativo de Tukey (anexos 8 y 9).



Gráfica 2 pH de los tratamientos

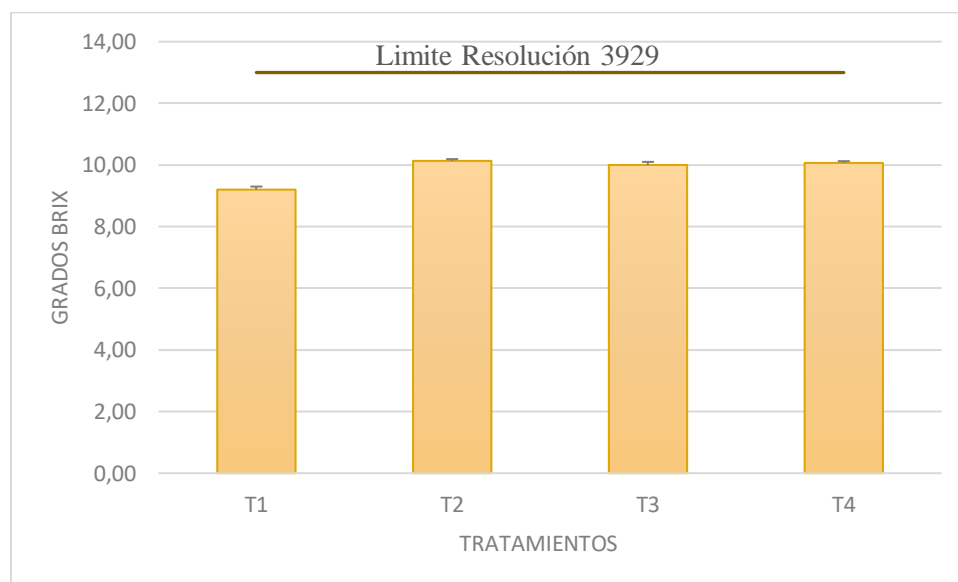
Como se observa en la gráfica 2, el límite máximo de pH que establece la resolución 3929 para refrescos es de 4, con lo que se encuentra que ninguno de los tratamientos supera este valor, cumpliendo así lo establecido en la norma.

6.3.1.3. °Brix

Al cuantificar los sólidos solubles en los tratamientos, se encuentra que estos son mayores en T2 ($10,13 \pm 0,0577$). Sin embargo, este valor se encuentra muy cercano a T3 y T4 ($10 \pm 0,1$ y $10,07 \pm 0,0577$ respectivamente), mientras que T1 presenta valores con mayor diferencia ($9,20 \pm 0,058$) siendo el tratamiento con menor cantidad de estos. Esto se evidencio al desarrollar el análisis estadístico ANOVA, el cual mostro que existen diferencias significativas entre las muestras y que al confirmarse con el método comparativo de Tukey, mostro que las muestras se dividían en dos grupos, siendo T1 quien presentaba diferencias frente a T2, T3 y T4 (anexos 10 y 11). Esta diferencia viene

dada por el aporte de sólidos que da la infusión, y que T1, al contener únicamente agua, su contenido de °Brix no era similar al de los otros tratamientos. Sin embargo, se puede observar que T1 tiene un contenido de sólidos, el cual se atribuye a la adición de azúcar en el refresco al igual que la adición de pulpa para que la muestra presentara los °Brix adecuados a este tipo de bebida.

Este contenido de °Brix se muestra en la gráfica 3, en donde se observa que efectivamente ninguno de los tratamientos supera el valor que establece la resolución 3929 que es de 13°Brix.



Gráfica 3 °Brix de los tratamientos

6.3.2. Cuantificación de la cafeína y la actividad antioxidante en el refresco

6.3.2.1. Cuantificación de la cantidad de cafeína

El valor obtenido de contenido de cafeína en cada tratamiento se muestra en la gráfica 4, donde se puede observar que para el tratamiento T1 no contiene cafeína debido a que este no contiene la infusión de café verde, para el tratamiento T2 la cafeína contenida es de 0,000103 mg/L, para T3 la cafeína contenida es de 0,000052 mg/L, para T4 la cafeína contenida es de 0,000077 mg/L, anteriormente se aclaró que estos tratamientos se utilizarían en caso de que

la cafeína se encontrara en el rango permitido para una bebida (250 mg/L), esto quiere decir que todos los tratamientos se encuentran en el rango permitido para una bebida con cafeína, estos resultados fueron obtenidos por medio de balances.

Para cada tratamiento se pudo observar que a medida que se incrementaba la cantidad de la infusión de café también aumentaba la actividad antioxidante de la bebida es por esto que el tratamiento que tuvo mayor contenido de cafeína era la que contenía el 100% de infusión de café verde en su formulación y el 8% de pulpa de gulupa y donde el tratamiento que mejor contenía cafeína es el que tenía 50% de infusión de café verde en su formulación y el 8% de pulpa de gulupa, cabe resaltar que el T1 no contenía cafeína ya que el tratamiento no tenía en su formulación la infusión de café verde. La curva utilizada para la cuantificación de cafeína se encuentra en el anexo 12.

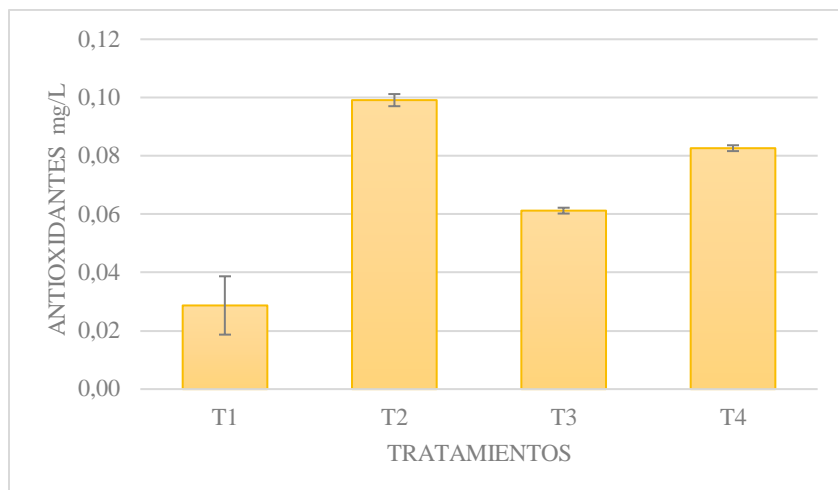


Gráfica 4 Cantidad de cafeína

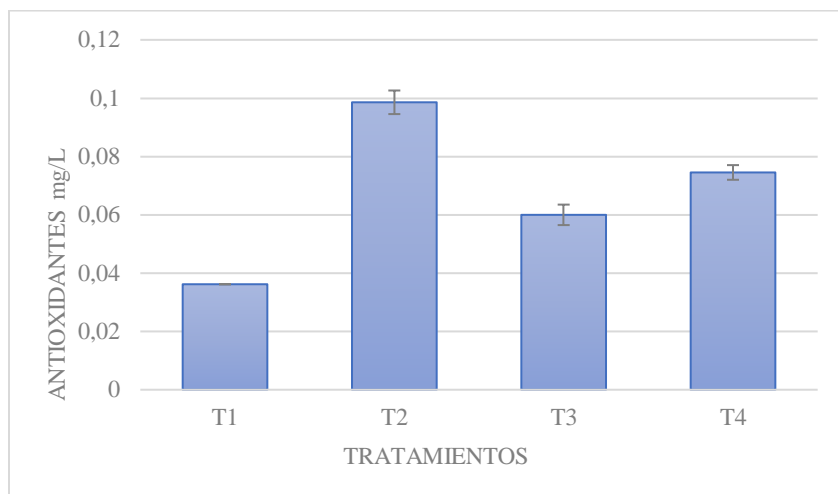
6.3.2.2. Cuantificación de capacidad antioxidante por DPPH y FRAP (método espectrofotométrico)

La actividad antioxidante en un alimento está relacionada con la capacidad de ciertos compuestos (fenoles, flavonoides, vitaminas) para atrapar radicales libres, en el caso de las

bebidas no solo contribuyen a la estabilidad de estas en cuanto a sus características sensoriales y fisicoquímicas sino también en la oportunidad de que lleguen al consumidor y favorezcan su salud. A continuación se presentan los resultados obtenidos de los antioxidantes en los distintos tratamientos por medio del método DPPH en la gráfica 5, y FRAP en la gráfica 6 donde se puede observar que T2 es la que mayor capacidad antioxidante tiene, seguido se encuentra T4, después se encuentra T3, por último se encuentra T1 queriendo decir que a medida que el tratamiento contiene más infusión de café verde la capacidad antioxidante del producto es mayor, es decir que a concentraciones más altas de café aumentara la actividad antioxidante. La capacidad antioxidante se determinó por medio de DPPH y FRAP, para T1 los resultados fueron de $0,032 \pm 0,01$ y $0,0362$ respectivamente; para el T2 los resultados fueron de $0,098 \pm 0,001$ y $0,0986 \pm 0,004$ respectivamente; para el T3 los resultados fueron de $0,059 \pm 0,001$ y $0,06 \pm 0,004$ respectivamente, y para el T4 los resultados fueron de $0,0833 \pm 0,001$ y $0,075 \pm 0,003$ respectivamente, con pequeñas diferencias en el orden de actividad según el ensayo. Según Gallego M.(2016) Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles, el ensayo FRAP es una medida de capacidad reductora y el DPPH es un radical estable centrado en el nitrógeno, el ensayo es sensible debido al impedimento estérico por diferentes sustituyentes voluminosos en la estructura química alrededor del radical, que produce pequeñas moléculas con diferentes antioxidantes que reaccionan a diferentes velocidades o no reaccionan rápidamente donde los resultados de DDPH generalmente muestra una mayor actividad antioxidante como es el caso de este proyecto. Las curvas utilizadas para la cuantificación de antioxidantes se encuentran en los anexos 13 y 14.



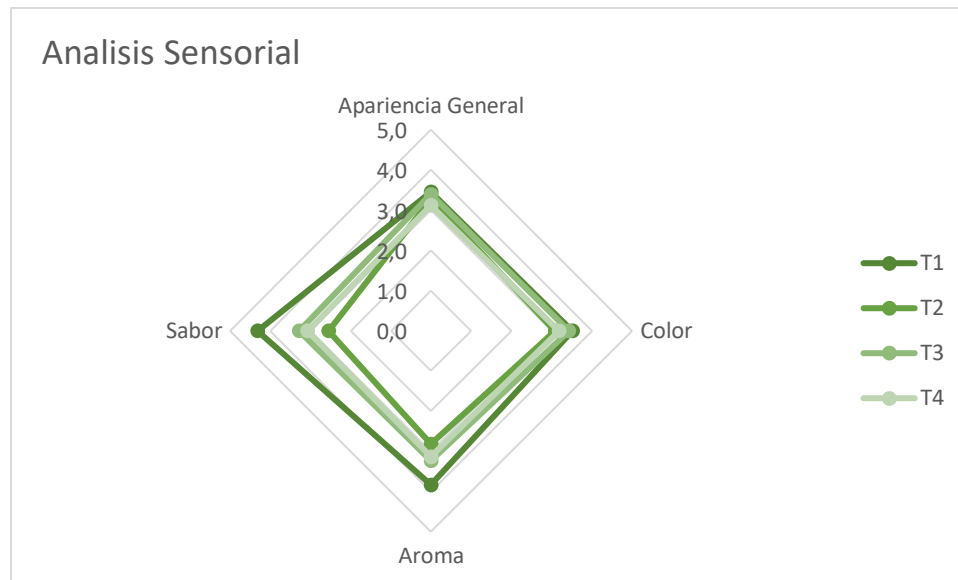
Gráfica 5 Cantidad de antioxidantes por método DPPH



Gráfica 6 Cantidad de antioxidantes por método FRAP

6.4. Resultados de prueba sensorial

En general de acuerdo a los resultados, el tratamiento con contenido de infusión de café verde que presentó mayor aceptación por parte de los panelistas fue T3 en todos los parámetros evaluados, como se muestra en la gráfica 6.



Gráfica 7 Resultado general de análisis sensorial

6.4.1. Color

En el parámetro de color, los panelistas observan una diferencia en una de los tratamientos, la cual se confirma con en el análisis de Kruskal-Wallis. Al observarse con el diagrama de araña, la diferencia se da entre T1 y T2, dado que el color que aporta la infusión de café da unos tonos más verdes grisáceos mientras que los tratamientos sin infusión son de color amarillo. Los otros tratamientos, al tener valores intermedios de infusión sus coloraciones son igualmente intermedios entre T1 y T2, por lo cual la diferencia no es significativa. En general todos los tratamientos tuvieron aceptación, siendo el de mayor aceptación T3.

6.4.2. Aroma

El aroma de los tratamientos presenta una diferencia significativa. Los panelistas logran identificar un ligero cambio en T1 frente a los otros tratamientos. Esto se da debido a que el café aporta un ligero aroma que algunos lo relacionaban a hojas de árbol o alverja seca, mientras que el T1 no presento aroma alguno diferente al de la gulupa, por lo cual T2, T3 t

T4 no presentan diferencia en este aspecto. En general todos los tratamientos fueron aceptados, siendo la de mayor aceptación T3 2.

6.4.3. Sabor

El sabor entre los tratamientos presento diferencia significativa. En este caso los panelistas sintieron diferencias frente T1 y T2, aceptando más el tratamiento que no contenía infusión y así mismo rechazando el que contenía la mayor concentración de infusión. Entre T3 y T4 no se ve gran diferencia en el sabor, para los panelistas eran tratamientos muy similares, sin embargo, aceptando entre estos T3, dado que tenía menos contenido de infusión. Los panelistas percibieron sabores amargos y secos para este, debido a la cantidad de taninos en el café, que dan su característica de astringencia, sin embargo, los tratamientos fueron aceptados, siendo T3 quien mayor puntaje obtuvo.

6.4.4. Apariencia general

El análisis sensorial muestra que en el parámetro de apariencia general los panelistas observan una diferencia significativa entre tratamientos, confirmado por medio de análisis por el método de Kruskal-Wallis. Todos los tratamientos presentan aceptación por parte del panelista con valores superiores a 3, sin embargo, esta diferencia que se observo es de esperarse dado que los todos los parámetros restantes presentaron al igual diferencias significativas.

7. Conclusiones

La infusión de café que se obtuvo para la elaboración de los distintos productos contó con una acidez titulable de 0,043 %, pH de 5,64 y 1,13 °Brix actividad antioxidante por DPPH de 0,0385 mg/ L y por FRAP de 0,037 mg/L y cafeína de 0,01256 mg/L. La pulpa de gulupa trabajada tuvo una acidez titulable 3,75 %, pH de 2,95 y 16,5 °Brix, actividad antioxidante por DPPH de 0,07 mg/ L y por FRAP de 0,0906 mg/L. Estas características combinadas proporcionaron las características adecuadas para la formulación de los refrescos.

De acuerdo a la caracterización fisicoquímica de los refrescos, se encontró que estos presentaron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores de °Brix dentro de un rango de 9,20 a 10,07, pH entre 3,81 y 3,57 y acidez titulable con valores entre 0,15% y 0,26% reportado en ácido cítrico.

Los refrescos obtenidos se encontraron en los límites de características fisicoquímicas que se encuentran en la Resolución 3929 de 2013, siendo este apto para los consumidores. Adicionalmente, presentaron un nivel de cafeína por debajo del valor diario de consumo establecido, por lo cual el refresco podría ser consumido sin problema alguno.

En cuanto a los resultados de las pruebas sensoriales, el producto tuvo una aceptabilidad media, ya que su sabor presentó varias notas de astringencia que no eran agradables para el consumidor.

La formulación con mayor aceptación fue aquella que contenía 50% de la infusión de café verde y 50% de agua.

La bebida elaborada tuvo un aporte de estos por parte de la infusión de café verde, así como de la pulpa de gulupa alcanzando concentraciones equivalentes de Trolox en el rango de 0,029 a 0,083 mg/ L, convirtiéndose en una opción de refresco que puede llegarse a producir a una mayor escala para ser llevado así al mercado.

La bebida T3 con adición del 50% de infusión fue admitida por los consumidores en el análisis de aceptación, sensorialmente, un parámetro decisivo en la aceptación de las bebidas, fue su homogeneidad a nivel de textura, puesto que a medida que esta característica se veía reflejada en el producto, los consumidores se inclinaban menos por él.

8. Recomendaciones

Debido a que el refresco tuvo una aceptación media dada por las notas astringentes, se recomienda realizar un néctar, es decir una bebida con un contenido de pulpa mayor al utilizado en este proyecto, de manera que el contenido de pulpa adicional pueda cubrir o mejorar aún más los sabores indeseables del producto.

Así mismo, debido a que el contenido de cafeína no supera los valores máximos recomendados, se sugiere realizar productos similares utilizando una mayor concentración de café verde en la bebidas, con el fin de aumentar la capacidad antioxidante de las bebidas, evaluando otras formulaciones.

Se propone realizar el refresco variando las concentraciones de pulpa en la bebida, ya que en este proyecto ésta solo fue utilizada como aporte para mejorar los sabores de la bebida final, pero la gulupa puede ser utilizada por su aporte de antioxidantes, que puede variar de acuerdo a la madurez de la misma.

Se recomienda hacer el mismo ensayo de actividad antioxidante de la infusión de café verde, pero con otro tipo de pulpa o cambiando la infusión de café verde a café tostado, para poder compararlas.

Seguir realizando estudios sobre el café verde no solo como fuente de antioxidantes si no como fuente de nutrientes, elaborando nuevos productos a partir de esta materia prima.

Se recomienda implementación del empaque con tabla nutricional y presentación del producto, así como un plan de comercialización.

Se recomienda realizar estudios sobre el efecto de la absorción del cuerpo, frente a los antioxidantes que contiene la bebida a base de café verde y gulupa.

Se recomienda fortalecer los nexos de trabajo con las organizaciones de productores campesinos de café a nivel nacional; así como, con la Federación Nacional de cafeteros para el desarrollo de subproductos a base de café verde, buscando mejorar el valor del café en el país.

9. Referencias

- AGRO. (2018). Cafeteros celebran cosecha sostenida, pero piden ayuda por precios. Obtenido de Revista Dinero: <https://www.dinero.com/edicion-impresa/pais/articulo/produccion-de-cafe-en-colombia-en-2018/261029>
- ANALDEX. (2017). *Mercado de la gulupa*. Colombia: Asociación Nacional de Comercio Exterior.
- Avello, Marcia, & Suwalsky, Mario. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* (Concepción), (494), 161-172. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-04622006000200010>
- Carvajal, L., Turbay, S., Rojano , B., Álvarez , L., Restrepo, S., Álvarez, J., . . . Sánchez, N. (2011). Algunas especies de Passiflora y su capacidad antioxidante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 354-363.
- Castaño-Castrillón, J. J., & Quintero, G. P. (2004) Calidad de extractos de café perforado por broca obtenidos por crioconcentración. *Cenicafé*, 55(3), 183-201.
- Cenicafé. (2011). Composición Química de una taza de café. Programa de Investigación Científica Fondo Nacional del Café.
- Clifford, M. (1975). The composition of green and Roasted coffee beans. *Process Biochemistry*, 13-16.
- Echeverri, D., Buitrago, L., Montes, F., Mejia , I., & Pilar , M. (2005). Café para cardiólogos. *Revista colombiana de Cardiología*, 357-365.

El Herald. (Octubre de 2015). *Las bebidas no alcoholicas mueven \$3.5 billones al año*. Recuperado el Diciembre de 2017, de: www.elheraldo.co/economia/las-bebidas-no-alcoholicas-mueven-35-billones-al-ano-225111

FDA (2018). *Al grano: ¿Cuánta cafeína es demasiada?* Recuperado de FOOD & DRUG Administration: www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/al-grano-cuanta-cafeina-es-demasiada.

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2010). *Café de Colombia. El arbol y el entorno*. Recuperado el 2018, de : http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/el_arbol_y_el_entorno/

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2010). *Café de Colombia*. Recuperado el 2018, de http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/el_cafe/

Federación Nacional de Colombia. (2010). *Café de Colombia* . Recuperado el 2018, de http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/el_cultivo/

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2018). Producción de café colombiano cae 2% en los últimos 12 meses. Recuperado el 2018, de https://www.federaciondecafeteros.org/clientes/es/sala_de_prensa/detalle/produccion_de_cafe_colombiano_cae_2_en_los_ultimos_12_meses/

Fischer, G. (2017). *Condiciones ambientales que afectan crecimiento, desarrollo y calidad de las pasifloráceas*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

Franco, G. (2013). *Caracterización fisiológica del fruto de gulupa (Passiflora edulis Sims), en condiciones del Bosque Húmedo Montano Bajo de Colombia* . Medellín: Universidad Nacional de Colombia.

Franklin & Sons Ltd . (2017). *Franklin & Sons Ltd 2017*. Recuperado el 2018, de <https://franklinandsons.co.uk/soft-drinks/1886-cola/>

Fundacion Española de Corazon. (2017). *Fundacion Española de Corazon*. Obtenido de ¿Perjudica la cafeína a nuestra salud?: <https://fundaciondelcorazon.com/corazon-facil/blog-impulso-vital/2320-iperjudica-la-cafeina-nuestra-salud.html>

Gallego M.. (2016). *Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles*. Tesis Doctoral. UNIVERSITAT POLITECNICA DE CATALUNYA BARCELONATECH: <https://pdfs.semanticscholar.org/30eb/b639b219043715af3e62ba3d12a4e3d788c2.pdf>

Garcia , J., De la Rosa, L., Gonzales A, Gonzalez, A., Lopez, J., Gonzalez , G., . . . Alvarez, E. (2011). Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. *Tecnociencias chihuahua*, Vol 2 N° 2.

Gareca, S., Laurimar, B., Montilla, G., Bianco, H., & Lopez A. (2014). *Evaluacion de las características fisico-químicas de calidad del café y molido*. Venezuela: INAPYMI Portuguesa.

Green Cola Bottling International. (2017). *Green Cola*. Recuperado el 2017, de <http://es.greencola.com/green-cola/>

Hernandez, E. (2005). *Evaluación Sensorial*. Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia.

Herrera, F. (2016). *Obtención de antioxidantes a partir del epicarpio de café (coffea arabica l.) empleando fluidos presurizados, una alternativa de aprovechamiento para este residuo agroindustrial*. Universidad libre de Colombia. Bogotá.

Hincapié, S. (2013). *Extracción de cafeína del café (Coffea arabica) por fluidos súper críticos*. Corporación Universitaria Lasallista. Caldas, Antioquia.

Hostelvending. (Mayo de 2014). *Grupo Celfa irrumpe en el vending*. Recuperado el Enero de 2018, de HOSTELVENDING: <https://www.hostelvending.com/noticias/noticias.php?n=6057>

Infusionistas. (2015). *Infusion de cafe verde*. Obtenido de Infusionistas. com

Instituto de Ciencias Naturales . (2016). *Reporte clasificación taxonómica gulupa (Passiflora edulis Sims)*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

INVIMA. (2006). *ACTA 03/06* . Colombia: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos .

International Coffee Organization. (2017) Aspectos botánicos. Recuperado en diciembre de 2017 de: http://www.ico.org/es/botanical_c.asp?section=Acerca_del_caf%E9

Issaac, M. (2009). *Mercados nacionales e internacionales de las frutas pasifloráceas*. En: *Cultivo, Poscosecha y Comercialización de las Pasifloráceas en Colombia: Maracuyá, Granadilla, Gulupa, y Curuba*. Seminario Nacional de Pasifloráceas, Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas: 327-343

Jimenez, A., Sanchez, M., & Martinez, M. (2012). *Optimización del método captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café*. Recuperado el 2018, de <http://revistas.um.es/analesvet/article/view/188731/155461>

Lazcano-Sánchez, Elidai; Trejo-Márquez, Ma. Andrea; Vargas-Martínez, Ma. Gabriela; Pascual-Bustamante, Selene. (2015). *Contenido de fenoles, cafeína y capacidad antioxidante de granos de café verdes y tostados de diferentes estados de México*. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 16, núm. 2, 2015, pp. 293-298 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México

Llerena, J., Solís, C., & Guerrero, H. (2018). Aprovechamiento del grano de café verde (*coffea arabica*) en la elaboración de una bebida refrescante. *Ciencia y Tecnologia*, 1(17).

Londoño J., Naranjo M., Quintero M.(2013) *STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY CHANGES OF COFFEE BEVERAGES DURING ITS SHELF LIFE USING IN-VITRO AND EX-VIVO METHODS*. REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA: <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169829161002.pdf>

Macías M., A; Riaño L., C.E. *Café orgánico: caracterización, torrefacción y enfriamiento*. Cenicafé 53(4): 281-292. 2002

Marentes, N. A. M., Ramírez, E. J. H., & Díaz, M. P. T. (2019). Caracterización y estabilidad de un extracto rico en antocianinas a partir del epicarpio de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims). *Revista Colombiana de Química*, 48(2), 27-32.

Marín, C., & Puerta , G. (2008). *Contenido de ácidos clorogénicos en granos de coffea arabica y C. canephora, según el desarrollo del fruto*. Colombia: Cenicafe.

MedlinePlus. (2018). *MedlinePlus*. Obtenido de Café verde:
<https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/1264.html>

Miranda, D., Fisher, G., Carranza, C., Magnitskity, S., Casierra, F., Piedrahita, W., & Florez, L. (2009). *Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuya, granadilla, gulupa y curuba*. Bogotá: Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas.

Meneses-Marentes, N. A., Herrera-Ramírez, E. J., & Tarazona-Díaz, M. P. (2019). *Caracterización y estabilidad de un extracto rico en antocianinas a partir de corteza de gulupa*. Revista Colombiana de Química, 48(2), 27-32.

Morales, A., & Vivas, Y. (2015). *Evaluación de la actividad antioxidante de una bebida refrescante a base de lactosuero adicionada con pulpa de curuba (Passiflora Mollissima Bailey), durante su almacenamiento*. Bogotá: Universidad de la Salle.

Moreno E., Ortiz B., Restrepo L. (2014). *Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales*. Revista Colombiana química., Volumen 43, Número 3, p. 41-48, 2014. ISSN electrónico 2357-3791. ISSN impreso 0120-2804:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/53615/53238>

Muñoz, W., Chavez, W., Pabón, L. C., Rendón, M. R., Patricia-Chaparro, M., & Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). *Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (Campomanesia lineatifolia)*. Revista CENIC. Ciencias Químicas, 46, 38-46.

Naranjo, M., Vélez, L., & Rojano, M. (2011). *Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades*. Recuperado el 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000200005

Navarro, J. (Agosto de 2012). *INNATIA*. Recuperado el Diciembre de 2017, de Clasificación del café: <http://www.innatia.com/s/c-consumo-cafe/a-clasificacion-del-cafe.html#>

Ocati. (Enero de 2019). *Ocati*. Recuperado el Enero de 2019, de <https://www.ocati.com/fruits/gulupa/?fbclid=IwAR2KcT1XheOR6X3tfzSY1gZ54dJmkvVrJAAwOhXOkrZGWg2MrPMAMu0DuY8>

Ojasild, E. (2009). *ELABORACIÓN DE NÉCTARES DE GULUPA (Passiflora edulis f. edulis) Y CURUBA (Passiflora mollissima)*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

Orjuela, N., Moreno, L., Hernández, M. y Melgarejo L. (2011). *Caracterización fisicoquímica de frutos de gulupa (passiflora edulis sims) bajo condiciones de almacenamiento*. Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

Pérez, L., Chavez, K., Medina, L., & Gámez, N. (2013). Compuestos fenolicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies COffee Arabica y Coffea Canephora. *Revista de Ciencias Biologicas y de la Salud*, 51-56.

Pérez, M. (2016). *Compuestos fenólicos y perfil de ácidos grasos en granos de café (coffea arabica L.) verde y tostado de variedades e híbridos cultivados en coatepec, Veracruz*. Veracruz, Mexico: Universidad Veracruzana.

Pinzon, P., Fisher, G., & Corredor, G. (2017). Determinacion de los estados de madurez del fruto de la gulupa (Passiflora edulis Sims.). *Agronomia Colombiana*, 83-95.

Pita, G., Cabrera, A., Serrano, G., Macias, C., & Hernandez, M. (2000). Vitaminas antioxidantes en un grupo de adolescentes como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares. *Revista cubana de Alimentacion y Nutricion*, 79-85.

Portafolio. (2017). *En mayo, producción de café en Colombia cayó 22,5%*. Recuperado el Octubre de 2017: <http://www.portafolio.co/economia/produccion-de-cafe-en-colombia-en-mayo-de-2017-506565>

Ramirez, J., Garcia, C., Vizcano, J., Cardenas, J., Gutierrez, F., Murga, H., & Villagran, S. (2011). ¿Que son y para que sirven los antioxidantes? *Revista de divulgacion cientifica y tecnologica de la universidad veracruzana*, 25(2).

Rendón, A. (2013). Diferenciación oligopólica del café verde colombiano en el mercado estadounidense. *Ecos de Economía*, 17(36).

Rojas, K. (2017). *Usos y beneficios de la gulupa*. Obtenido de Jardin Exotics: <https://jardinexotics.com.co/usos-y-beneficios-de-la-gulupa/>

Salinas, J. (2002). *Elaboracion de una bebida saborizada con base en agua y sabores artificiales de fruta*. Honduras .

Secretaria de Agricultura y Minería. (2010). *Protección de denominación de origen de cholupa del Huila*. Huila: Gobernacion del Huila.

Serna, J., Torres, L., Martínez, K., & Hernández, C. (2018). *Aprovechamiento de la pulpa de café como alternativa de valorizacion de subproductos*. Universidad la Gran Colombia. Armenia.

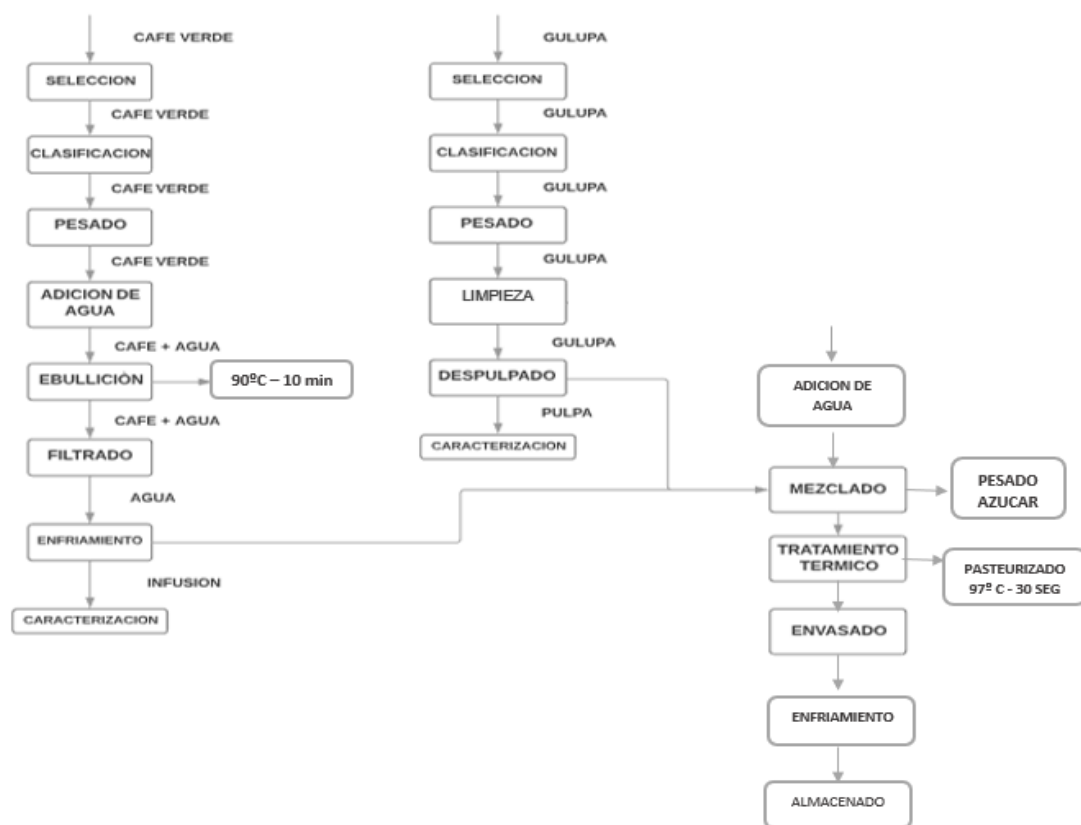
Shearman, S. (22 de Marzo de 2012). *Campaign*. Recuperado el Enero de 2018, de Starbucks enters energy drinks market with green coffee: www.campaignlive.co.uk/article/starbucks-enters-energy-drinks-market-green-coffee/1123537

USDA (2015). United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service
USDA Food Composition Databases

Zuluaga , R., Barajas, J., Velasquez, J., & Velez, L. (2015). *Desarrollo de un refresco a partir de la mezcla de fresa (*Fragaria ananassa*), mora (*Rubus glaucus*), gulupa (*Passiflora edulis Sims*) y uchuva (*Physalis peruviana L.*) fortificado con hierro dirigido a niños en edad preescolar*. Recuperado el 2018, de *Perspect Nut Hum* [online]. 2015, vol.17, n.2, pp.151-163. ISSN 0124-4108. : http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0124-41082015000200151&script=sci_abstract&tlng=es

10. Anexos

Anexo 1 Procedimiento de elaboración de la infusión de café verde y los refrescos



Anexo 2 Formulación T1

INGREDIENTES	BASE 100	°BRIX	S.S (g)	% ACIDO	ACIDO (g)	TOTAL (g)
GULUPA	8	15	1,2	4,36	0,3488	480
AZUCAR	9,8	100	9,8			588
AGUA	82,2	0				4932
	100		11			6000

Anexo 3 Formulación T2

INGREDIENTES	BASE 100	°BRIX	S.S (g)	% ACIDO	ACIDO (g)	TOTAL (g)
GULUPA	8	15	1,2	4,36	0,3488	480
AZUCAR	8,57	100	8,567			514,02
INFUSION CAFÉ	82,2	1,5	1,233			4932
	100		11			6000

Anexo 4 Formulación T3

INGREDIENTES	BASE 100	°BRIX	S.S (g)	% ACIDO	ACIDO (g)	TOTAL (g)
GULUPA	8	15	1,2	4,36	0,3488	480
AZUCAR	9,18	100	9,1835			551,01
INFUSION CAFÉ	41,1	1,5	0,6165			2466
AGUA	41,1					2466
	100		11			6000

Anexo 5 Formulación T4

INGREDIENTES	BASE 100	°BRIX	S.S (g)	% ACIDO	ACIDO (g)	TOTAL (g)
GULUPA	8	15	1,2	4,36	0,3488	480
AZUCAR	8,8136	100	8,88			533
INFUSION CAFÉ	61,7	1,5	0,92			3699
AGUA	21,47					1288
	100		11			6000

Anexo 6 Tabla ANOVA para %acidez

TABLA ANOVA ACIDEZ					
Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Fo	F 0,05,3,12
Tratamiento	0,026621269	3	0,0088738	878,29	3,49
Error	0,000080828	8	0,0000101		
Total	0,026702097	11			

Anexo 7 Grupos de tratamientos por %acidez

Tratamiento	\bar{Y}	Grupos			
1	0,15	1			
3	0,23		2		
4	0,26			3	
2	0,28				4

Anexo 8 Tabla ANOVA para pH

TABLA ANOVA PH					
Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Fo	F 0,05,3,12
Tratamiento	0,42849	3	0,142831	2142,46	3,49
Error	0,000533	8	0,000067		
Total	0,42902	11			

Anexo 9 Grupos de tratamientos por pH

Tratamiento	\bar{Y}	Grupos			
1	3,81	1			
3	3,73		2		
4	3,57			3	
2	3,32				4

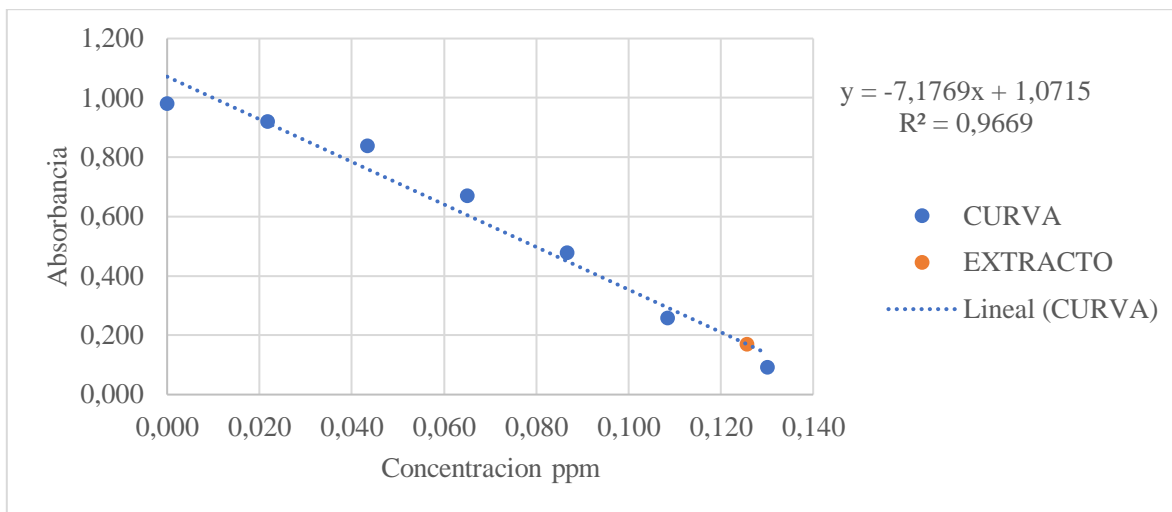
Anexo 10 Tabla ANOVA para °Brix

TABLA ANOVA °BRIX					
Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Fo	F ,05,3,12
Tratamiento	1,71667	3	0,572	85,83	3,49
Error	0,053333	8	0,007		
Total	1,77000	11			

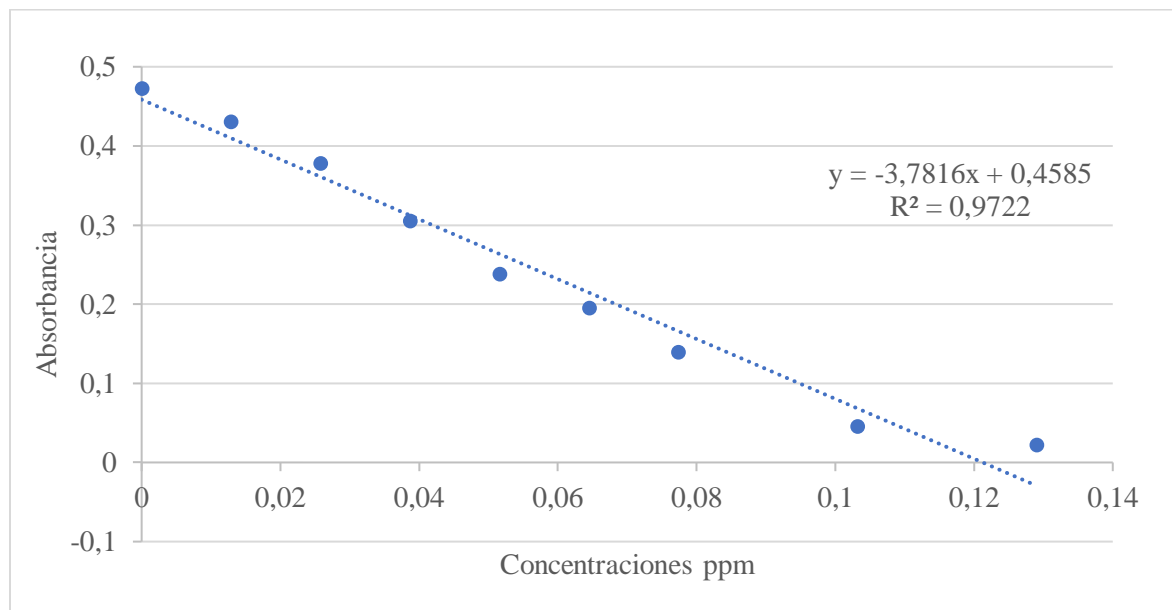
Anexo 11 Grupos de tratamientos por °Brix

Tratamiento	\bar{Y}	Grupos	
2	10,13	1	
4	10,07	1	
3	10,00	1	
1	9,20		2

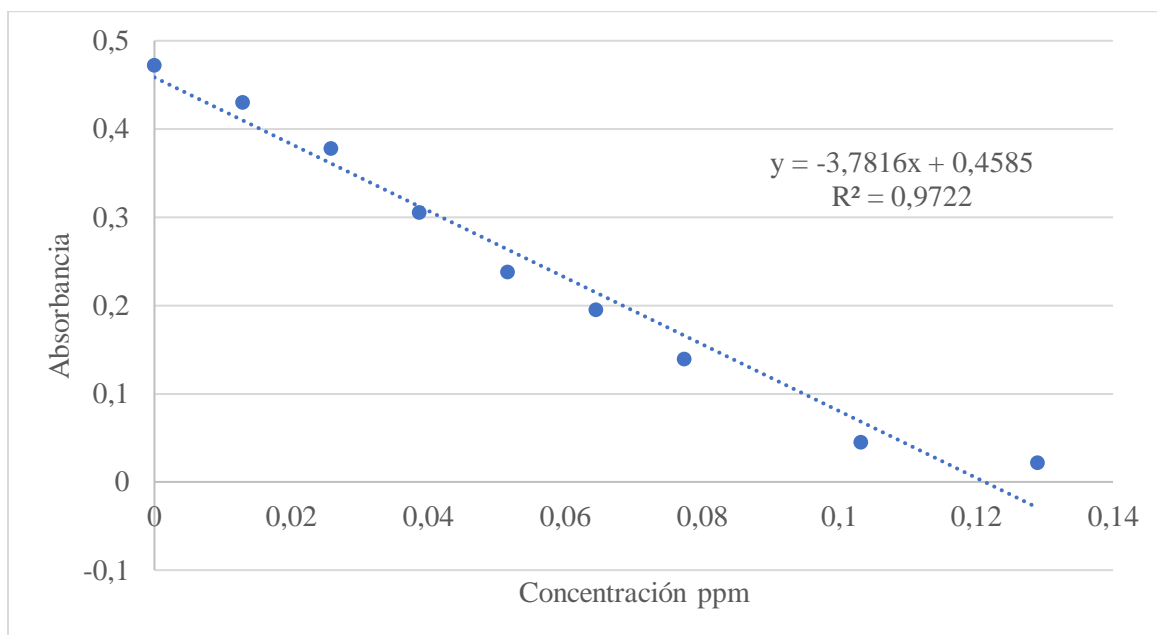
Anexo 12 Curva de calibración de determinación de cafeína



Anexo 13 Curva de calibración de determinación de antioxidantes método DPPH



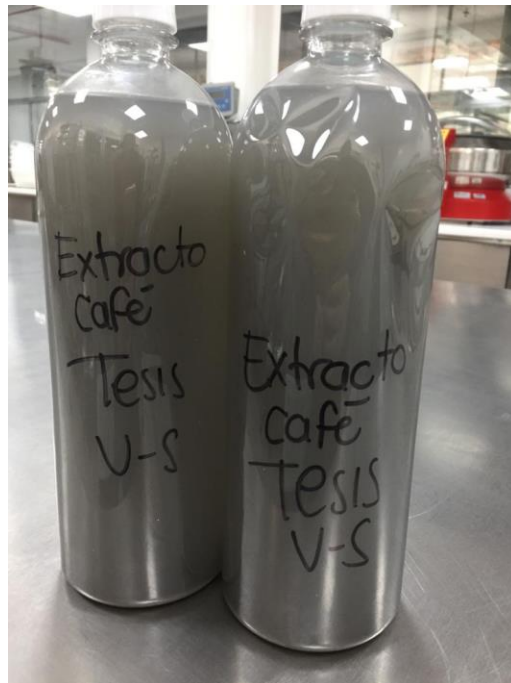
Anexo 14 Curva de calibración de determinación de antioxidantes método FRAP



Anexo 15 Tabla resumen de características fisicoquímicas de tratamientos.

Tratamiento	Replica	pH	Acidez	Brix
1	1	3,8	0,151	9,2
1	2	3,82	0,154	9,1
1	3	3,81	0,156	9,3
2	1	3,32	0,282	10,2
2	2	3,31	0,274	10,1
2	3	3,32	0,279	10,1
3	1	3,73	0,238	10
3	2	3,74	0,234	10,1
3	3	3,73	0,230	9,9
4	1	3,57	0,255	10,1
4	2	3,58	0,259	10,1
4	3	3,56	0,256	10

Anexo 16 Muestras de los extractos obtenidos



Anexo 17 Tratamientos obtenidos



Anexo 18 Prueba sensorial

